

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ANATOMİ ANABİLİM DALI

**KRONİK SELÜLOZİK TİNER İNHALASYONU
SONRASI RAT NUCLEUS ACCUMBENS'İNDE
OLUŞACAK HASAR ÜZERİNE MELATONİN VE
KORTİSTATİNİN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Merve ÖNDER

DOKTORA TEZİ

2023-ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ANATOMİ ANABİLİM DALI

KRONİK SELÜLOZİK TİNER İNHALASYONU
SONRASI RAT NUCLEUS ACCUMBENS’İNDE
OLUŞACAK HASAR ÜZERİNE MELATONİN VE
KORTİSTATİNİN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Merve ÖNDER

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Nurettin OĞUZ

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TDK-2021-5506 proje numarası ile desteklenmiştir.

“Kaynakça gösterilerek tezimden yararlanılabilir”

2023-ANTALYA

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;

Bu çalışma jürimiz tarafından Anatomi Anabilim Dalı Doktora Programında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir. / /

İmza

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Nurettin OĞUZ
Akdeniz Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Muzaffer SİNDEL
Akdeniz Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Akın YEŞİLKAYA
Akdeniz Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Ferruh YÜCEL
Eskişehir Osmangazi Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Seda AVNİOĞLU
Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../..... tarih ve/..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı beyan ederim.

Merve ÖNDER

Prof. Dr. Nurettin OĞUZ

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim ve tez çalışmalarım boyunca bilgi birikimlerini, deneyimlerini, hoşgörülerini esirgemeyen; tez konumun seçilmesi, yürütülmesi ve tamamlanmasındaki katkılarından dolayı, danışman hocam Sayın Prof. Dr. Nurettin OĞUZ'a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, tez çalışmalarım süresince büyük yardımlarını gördüğüm, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, Sayın Prof. Dr. Elif İnanç GÜRER, Prof. Dr. Muzaffer SİNDEL, Prof. Dr. Akın YEŞİLKAYA sonsuz teşekkürlerimi ve saygılarımı arz ederim. Tezimin üzerinde büyük emeği olan rahmetli sayın Prof. Dr. Saadet GÜMÜŞLÜ'yü saygıyla anıyorum.

Ayrıca tezimin hazırlanmasında emeği geçen Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı akademik ve idari personele, tezimde istatistik alanındaki yardımlarından dolayı Sayın Dr. Başak OĞUZ YOLCULAR'a ve tezimde biyokimya alanındaki yardımlarından dolayı Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Biyokimya Anabilim Dalı akademik personeli Dr. Öğr. Üyesi Serdar DOĞAN'a teşekkürlerimi sunarım. Beraber çalıştığım her konuda yardımlarını esirgemeyen, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Anatomi Anabilim Dalı akademik personeli Dr. Öğr. Üyesi Sezgi GÜRÇAY'a, deney sürecinde ve her anımda yanımda olan Veteriner Hekim Ayşe ÖNDER ve Deney Hayvanları Bakım ve Üretim Ünitesi idari personeli Sayın Sağlık Teknisyeni İbrahim ÇALIŞKAN'a katkılarından dolayı çok teşekkür ederim. Deney Yaşamımın her anında moral ve motivasyon desteğini hissettiğim Araş. Gör. Yılmaz YILDIRIM'a katkılarından dolayı çok teşekkür ederim. Deney sürecinde yaşamımın her anında Beraber çalışma fırsatı bulduğum ve tez aşamasında yardımlarını esirgemeyen tüm asistan arkadaşlarıma da ayrıca teşekkür ederim. Yardımlarından dolayı Sağlık Bilimleri Enstitüsü akademik ve idari personeline teşekkürlerimi sunarım.

Yaşamım boyunca her zaman yanımda olan, beni yüreklendiren, her koşulda destekleyen fedakar anneme, babama ve ağabeyime çok teşekkür ederim.

ÖZET

Amaç: Organik çözücüler günlük yaşamımızda ve endüstride kullanılan maddelerdir. Bu maddelerden olan tiner bazı gruplar tarafından uyuşturucu olarak kullanılmaktadır. Çalışmamızın amacı, selülozik tinerin kronik inhalasyona bağlı olarak rat nuc. accumbens’inde oluşturacağı hasar üzerine melatonin ve kortistatinin etkilerini incelemektir.

Yöntem: Çalışmamızda yaklaşık 400-450gr ağırlığında 90 adet *Rattus norvegicus wistar* kullanıldı. Sıçanlar 9 gruba ayrıldı. Sıçanlar 6 hafta süre ile günde 2 kez olmak üzere birer saat tiner inhalasyonu etkisine bırakıldı. Çalışmada selülozik tiner kullanıldı. Tinerin bileşimindeki solventlerin konsantrasyonları gaz dedektörü ile ölçüldü. Tanımlayıcı istatistikler; ortalama (mean), standart sapma (SD) ve medyan (ortanca), minimum (min), maksimum (max) değerleri ile sunulmuştur.

Bulgular: Deney sonunda; deneklerin tüylerinde sararma, aşırı yalanma, sık göz kırpma gözlemledik. Histolojik ve ultrastrüktürel incelemede; tiner alan grubun nuc. accumbens’indeki hücrelerinin morfolojilerinde diğer gruplara göre dejenerasyon; mitokondri, ribozom ve endoplazmik retikulum sayılarında azalma, melatonin, kortistatin ve tiner alan grupta (Grup 5) kontrol grubuna yakın değerler gözlemledik. Tiner alan grubun diğer gruplara göre; GSH-Px, SOD, MDA ve CAT değerlerinde artma saptadık.

Sonuç: Tiner inhalasyonu sonrası melatonin ve kortistatin almanın nuc. accumbens’de oluşan hasara karşı önleyici; dolayısıyla işçi sağlığı açısından önemli olduğunu düşünüyoruz.

Anahtar Kelimeler: inhalasyon, kortistatin, melatonin, nuc. accumbens, selülozik tiner

ABSTRACT

Objective: Organic solvents are substances used in our daily life and industry. Thinner, one of these substances, is used as a drug by some groups. The aim of our study was to detect cellulosic thinner in rat nuc due to chronic inhalation. The aim of this study is to examine the effects of melatonin and cortistatin on the damage it will cause in the accumbens.

Method: In our study, 90 *Rattus norvegicus* wistars weighing approximately 400-450gr were used. The rats were divided into 9 groups. Rats were exposed to thinner inhalation for one hour, twice a day for 6 weeks. Cellulosic thinner was used in the study. The concentrations of solvents in the composition of the thinner were measured with a gas detector. Descriptive statistics; are presented with mean (mean), standard deviation (SD) and median (median), minimum (min), maximum (max) values.

Results: At the end of the experiment; We observed yellowing, excessive licking, and frequent blinking in the hairs of the subjects. In histological and ultrastructural examination; nuc. degeneration in the morphology of cells in the accumbens compared to other groups; We observed a decrease in the number of mitochondria, ribosomes and endoplasmic reticulum, and values close to the control group in the group receiving melatonin, cortistatin and thinner (Group 5). Compared to the other groups, the group receiving thinner; We found an increase in GSH-Px, SOD, MDA and CAT values.

Conclusion: The nuc effect of taking melatonin and cortistatin after thinner inhalation. preventive against accumbens damage; Therefore, we think that it is important in terms of worker health.

Keywords: inhalation, cortistatin, melatonin, nuc. accumbens, cellulosic thinner

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
TABLolar DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	
SİMGELER ve KISALTMALAR	
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tiner	3
2.1.1. Selülozik Tinerin Kimyasal Yapısı	4
2.1.2. Tinerin Toksik Etkileri	5
2.2. Bağımlılık	6
2.3. Nuc. accumbens	7
2.4. Serbest Radikaller	8
2.4.1. Reaktif Oksijen Türleri	8
2.5. Serbest Oksijen Radikallerinin Oluşturduğu Oksidatif Hasar	11
2.5.1. Proteinler Üzerine Etkisi	11
2.5.2. Karbonhidratlar Üzerine Etkisi	12
2.5.3. Nükleik Asitler Üzerine Etkisi	12
2.5.4. Lipidler Üzerine Etkisi	12
2.6. Antioksidan Savunma Sistemleri	14
2.6.1. Enzimatik Antioksidanlar	16
2.6.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	17
2.7. Melatonin	18
2.7.1. Melatoninin Görevleri	19
2.8. Kortistatin	20
3. GEREÇ ve YÖNTEM	22
3.1. Denekler	22
3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması	22
3.3. Deney Düzenegi	23

3.3.1. Tiner İnhalasyonunun Uygulanması	23
3.4. Melatonin uygulaması	24
3.5. Kortistatin uygulaması	25
3.6. Nuc. accumbens Dokusunun Disseksiyonu	25
3.7. Işık Mikroskobi İncelemesi	26
3.8. Elektron Mikroskobi İncelemesi	27
3.9. Biyokimyasal Analiz	29
3.10. İstatistiksel Analiz	31
4. BULGULAR	33
4.1. Denek Ağırlıkları	34
4.2. Işık Mikroskobisi Gözlemleri	34
4.3. Ultrastrüktürel Değerlendirme Bulguları	36
4.3.1. Kontrol Grubu	36
4.3.2. Tiner İnhalasyonu Alan Grup	36
4.3.3. Kortistatin Uygulaması ve Tiner İnhalasyonu Alan Grup	37
4.3.4. Melatonin Uygulaması ve Tiner İnhalasyonu Alan Grup	37
4.3.5. Melatonin, Kortistatin Uygulaması ve Tiner İnhalasyonu Alan Grup	38
4.4. Biyokimyasal Değerlendirmeler	39
4.4.1. Katalaz Enzim Aktivite Tayini	39
4.4.2. Glutasyon Peroksidaz Enzim Aktivite Tayini	40
4.4.3. Süperoksit Dismutaz Aktivite Tayini	41
4.4.4. Lipid Peroksidaz Seviyeleri Tayini	42
5. TARTIŞMA	44
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	49
KAYNAKLAR	51
ÖZGEÇMİŞ	66

TABLÖLAR DİZİNİ		Sayfa
Tablo 3.1	Rat Grublarının Sayısal Dağılımı	22
Tablo 4.1	Gruplar arası deneklerin katalaz/protein değerleri	39
Tablo 4.2	İlk 5 gruptaki deneklerin katalaz/protein değerleri	39
Tablo 4.3	Gruplar arası doku GPx aktivitesi'nin değerlendirilmesi	40
Tablo 4.4	İlk 5 gruptaki deneklerin GPx/protein değerleri	41
Tablo 4.5	Gruplar arası doku SOD aktivitesi'nin değerlendirilmesi	41
Tablo 4.6	İlk 5 gruptaki deneklerin SOD/protein değerleri	42
Tablo 4.7	Gruplar arası doku TBARS düzeyleri değerlendirilmesi	42
Tablo 4.8	İlk 5 gruptaki deneklerin MDA/protein değerleri	43

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1.	Araştırma ventilasyonu özel cam kafes	24
Şekil 3.2.	Kafa kemikleri içinden beynin totalinin çıkarılması	26
Şekil 3.3.	Beyin matriksinde nuc. accumbens	26
Şekil 4.1.	Kontrol grubu denek	33
Şekil 4.2.	Tiner inhalasyonu alan denek	33
Şekil 4.3.	Nuc. accumbens bölgesindeki piramidal hücrelerdeki Hematoksilen-Eozin boyaması	35
Şekil 4.4.	Nuc. accumbens bölgesinden-piramidal hücre Elektron mikroskopi bulguları Grup 1 (Kontrol Grubu) x20.000	36
Şekil 4.5.	Nuc. accumbens bölgesinden-piramidal hücre Elektron mikroskopi bulguları Grup 2 (Tiner inhale edilen grup) x20.000	37
Şekil 4.6.	Nuc. accumbens bölgesinden-piramidal hücre Elektron mikroskopi bulguları Grup 3 (Tiner+Kortistatin) x20.000	37
Şekil 4.7.	Nuc. accumbens bölgesinden-piramidal hücre Elektron mikroskopi bulguları Grup 4 (Tiner+Melatonin) x20.000	38
Şekil 4.8.	Nuc. accumbens bölgesinden-piramidal hücre Elektron mikroskopi bulguları. Grup 5 (Tiner+Melatonin+Kortistatin) x20.000	38

SİMGELER ve KISALTMALAR

6-HMS	6-Hidroksimelatoninsülfat
AFMK	N ₁ -asetil-N ₂ -formil-5-metoksikinüramin
ACTH	Adrenokortikotropik Hormon
APUD	Amine Precursor Uptake Dekarboksilaz
BOS	Beyin Omurilik Sıvısı
CAT	Katalaz
CBrCl₃	Bromotriklorometan
CCl₄	Karbontetraklorür
CY212	Araldite
DDSA	Dodecenylsuccinic Anhydride
G6PD	Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz
GR	Glutasyon redüktaz
GSH-Px	Glutasyon peroksidaz
GST	Glutasyon S-transferaz
HIOMT	Hidroksiindol-o-metiltransferaz
H₂O₂	Hidrojen peroksit
IDO	İndolamin 2,3-dioksijenaz
MDA	Malondialdehit
MEL	Melatonin
NAT	N-asetil transferaz
NO•	Nitrik oksit
NO₂ •	Azot dioksit

NO₂ +	Nitronyum iyonu
NO₂ –	Nitrit
NO₃ –	Nitrat
O₂ –	Süperoksit anyonu
OH•	Hidroksil radikali
ONOO–	Peroksinitrit
OsO₄	Osmium Tetraoksit
PLGSH-Px	Fosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidaz
pO₂	Oksijen basıncı
R•	Organik radikaller
RCOO•	Organik peroksitler
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
RS•	Tiyil radikalleri
Se	Selenyum
SFT	Sörensen Fosfat Tamponu
SOD	Süperoksit dismutaz
TAAB	Propilen Oksit
TBARS	Tiyobarbitürat reaktif maddeler
Tr.	Tractus
XOD	Ksantin oksidaz

1. GİRİŞ

Organik çözücüler yaygın olarak kullanılan sıvı maddelerdir. 1880 yılına kadar ancak 20 kadar çözücü bilinirken, bugün sayıları binleri geçmektedir (Rodgers GC ve ark.,2007). Son yıllarda bu maddelerden olan tinerin uyuşturucu olarak kullanılması da söz konusu olmuştur.

Ülkemizde tiner genellikle boya tineri olarak adlandırılmaktadır. Fiziksel ve kimyasal özellikleri Türk Standartları Enstitüsü (TSE) tarafından belirlenir. Selülozik ve sentetik olmak üzere iki çeşit tiner bulunmaktadır. İstanbul Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Bölümü tarafından ülkemizdeki selülozik tinerin içeriği gaz kromatografisi metodu ile analiz edilmiştir (Vural N.Toksikoloji.2. Baskı, Ankara, Ankara Üniversitesi Basımevi,1996;45380).

Sonuçlara göre ülkemizdeki tinerler, yaklaşık olarak % 63 oranında toluen, % 13 aseton, % 10 izobutil asetat, % 7.5 izobutanol, % 6.5 butilglolikol içermektedir. Günümüzde tinerin uyuşturucu amaçlı kötüye kullanımı ülkemizde de sağlık açısından ve sosyal açıdan giderek önemli bir sorun haline gelmektedir. Bu yüzden tinerin sağlık üzerindeki etkilerinin belirlenmesi gereklidir (Vural N.Toksikoloji.2. Baskı. Ankara, Ankara Üniversitesi Basımevi, 1996;45380).

Çalışmalarda organik solventlerin hücre hasarındaki toksik etkilerini reaktif oksijen ürünleri (ROS) oluşumu yolu ile gösterdikleri bildirilmiştir (Mattia ve ark., 1991; LeBel ve ark., 1990; Suleiman ve ark., 1987; Stickney ve ark. 1989). Süperoksit anyonu, ferril ve hidroksil iyonları gibi reaktif oksijen ürünlerinin lipid peroksidasyonunu başlattığı bilinmektedir. Dokularda ROS'un yaptığı hasar lipid peroksidasyonlarının ölçümü ile belirlenmektedir. Melatonin bilinen en güçlü antioksidanlardan biridir (Mattia ve ark., 1993; Pascual ve ark., 2000). Hasara uğrayan hücrenin kendi kendini tamir etmesine yardım eden bir antioksidandır. Melatonin hidroksil ve peroksit radikallerinin güçlü süpürücüsüdür (Ozan ve ark.,2005). Melatoninin serbest radikaller üzerine dolaylı etkileri vardır. Melatonin, hidroperoksitleri metabolize eden GSH-Px enzimini aktive ederek, O₂ - radikalini H₂O₂'ye kataliz eden süperoksit dismutaz aktivitesini arttırarak, oksidatif stres

esnasında katalaz aktivitesindeki azalmayı önleyerek ve NO oluşumundan sorumlu nitrik oksit sentaz (NOS) enzimini inhibe ederek de antioksidan etki göstermektedir.

Melatonin antioksidan enzimleri uyarır, lipid peroksidasyonunu engeller ve beyin dokusunu oksijen kaynaklı serbest radikallerden korur.

Kortistatin siklik bir nöropeptittir. Nöropeptitler, nöroprotektif ve nörohormon olarak görev yaparlar. Bizde çalışmamızda hücrelerde meydana gelecek olan hasarı koruyucu etkilerinden dolayı kortistatin kullanmayı tercih ettik.

Çalışmamızın amacı, selülozik tinerin kronik inhalasyona bağlı olarak rat nuc. accumbens'inde oluşturduğu hasar üzerine melatonin ve kortistatinin etkilerinin histolojik, ultrastrüktürel, ve biyokimyasal düzeyde incelenmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tiner

Organik çözücüler günlük yaşamımızda evlerde, endüstride birçok iş yerinde yaygın olarak kullanılan sıvı maddelerdir. Sayıları her geçen gün artmaktadır. 1880 yılına kadar ancak 20 kadar çözücü bilinirken, bugün sayıları binleri geçmektedir. Bunlardan en az üç yüz tanesi yaygın olarak kullanılmaktadır (Vural N.Toksikoloji.2. Baskı. Ankara, Ankara Üniversitesi Basımevi, 1996;45380). İnsanlar uçucu çözücülere, günlük yaşamlarında birçok aşamada; inhalasyonla, deri yoluyla ve oral yol ile maruz kalmaktadırlar (Rodgers GC ve ark.,2007; Flanagan RJ ve ark.,1990; Vural N. Toksikoloji 2. Baskı Ankara,1996). 1950’li yıllardan itibaren çocuklar ve ergenler tarafından uyuşturucu amaçlı kullanılmaktadır (Flanagan RJ ve ark.,1990; Vural N. Toksikoloji 2. Baskı Ankara,1996). Diğer uyuşturucu maddelerin pahalı, temininin zor ve kullanımının yasak olması nedeniyle, daha çok özellikle sosyoekonomik düzeyi düşük ve ailevi problemleri olan gençler tarafından tiner tercih edilmektedir (Flanagan RJ ve ark.,1990; Vural N. Toksikoloji 2. Baskı Ankara,1996). Uçucu maddelerin sadece sokakta yaşayan çocuklar arasında kullanıldığı düşüncesi son yıllarda ortadan kalkmıştır. Bu maddeler artık her yaşta ve sosyoekonomik düzeyde kullanılan maddeler haline gelmiştir (Flanagan RJ ve ark.,1990; Vural N. Toksikoloji 2. Baskı Ankara,1996).

Ülkemizde bulunan tiner genellikle boya tineri olarak adlandırılmaktadır. Fiziksel ve kimyasal özellikleri Türk Standartları Enstitüsü (TSE) tarafından belirlenmektedir. Selülozik ve sentetik olmak üzere iki çeşit tiner bulunmaktadır. Selülozik tiner; bünyesinde hidrokarbonlar, esterler, glikol eterler, ketonlar ile alkoller bulunduran ve nitro-selüloz esaslı her türlü boyaların, verniklerin viskozitelerini düşürerek uygulama kolaylığı sağlamak için kullanılan çözücü karışımdır (Gummin DD ve ark.,2000). Deneysel çalışmalarda gerçek konsantrasyonunun belirlenmesi çok zordur. Boya tinerinin gaz kromatografik analizinde 200’den fazla aromatik ve alifatik maddenin karışımından oluştuğu ortaya çıkmıştır. İstanbul Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Bölümü tarafından ülkemizdeki selülozik tinerin içeriğini gaz kromatografisi metodu ile analiz edilmiştir. Sonuçlara göre ülkemizdeki tinerler, yaklaşık olarak % 63 oranında toluen, %

13 aseton, % 10 izobutil asetat, % 7.5 izobutanol, % 6.5 butilglikol içermektedir (Vural N. Toksikoloji 2. Baskı Ankara,1996). Uçucu maddelerin inhalasyonu, sıklıkla plastik bir torba veya şişe içinden ya da kumaş üzerine dökülerek yapılmaktadır. Akut intoksikasyondaki etkileri keyif verici olup, öfori, zindelik, disinhibisyon, takiben gevşeme, baş dönmesi, görsel, işitsel halusinasyonlar, yorgunluk ve uyku halidir. Günümüzde tinerin uyuşturucu amaçlı kötüye kullanımı ülkemizde de sağlık açısından ve sosyal açıdan giderek önemli bir sorun haline gelmektedir. Bu yüzden tinerin kötüye kullanılmasının sağlık üzerindeki etkilerinin belirlenmesi gereklidir (Türk Standartları Enstitüsü, TS 9720/Ocak 1992; Carabez A ve ark.,1998; Barroso-Moguel R ve ark.,1989).

2.1.1. Selülozik Tinerin Kimyasal Yapısı

Selülozik tiner, yapısında kuvvetli çözücüler bulunan renksiz, berrak bir çözücüdür.

Selülozik tinerin içerikleri:

Toluen: Toluen, benzen halkasına metil grubu eklenmesi ile elde edilen aromatik bir hidrokarbondur. İnhalasyon edilebilir dozun %50 sinin absorbe edildiği gösterilmiştir. Suda az çözülen bir maddedir. 61-500 ppm konsantrasyondaki tolue buharı göz ve solunum mukozası için irritandır. Deri ile temas sonrası enflamasyon gelişir. Sistemik etkisi ise merkezi sinir sisteminde depresyonuna yol açmasıdır. 800 ppm tolue ile akut karşılaşma sonrası baş ağrısı, iştahsızlık, yorgunluk, nöromusküler inkoordinasyon, bulantı, vertigo, parestezi, mental konfüzyon ve bilinç kaybı gözlenir. Semptomlar 200-300 ppm tolue ile temas sonrası görülmeye başlar, 600 ppm tolue inhalasyonu sonrası belirgin hale gelir. Kronik etkileri ise kalıcı serebellar ataksi, kronik ensefalopati (ataksi, tremor, mental durum değişiklikleri), rekürren baş ağrıları ve kişilik değişiklikleridir (Vural N. Toksikoloji 2. Baskı, Ankara, 1996;453-80; Ellenharn MJ ve ark. 1988).

Aseton: Genel olarak izopropil alkolün dehidrojenasyonu sonucu elde edilir (Allen R ve ark.,1992). Akut ve kronik toksisitesi çok nadir olup, yan etkileri azdır. Toksik etkisi sindirim ve inhalasyon yoluyla olur. Bütün vücut sıvılarına yayılır. 15-20 gr aseton alımı toksisite oluşturmaz, 200-400 ml saf asetonun oral alımı merkezi sinir sistemi depresyonu oluşturur ancak uzun dönemde sekel bırakmaz. (Ellenharn MJ ve ark. 1988). Kronik maruziyet sonucu baş ağrısı, ağız kuruluğu, boğaz ve burun mukozası irritasyonu görülür,

ortamdan uzaklaştırıldığında bu yan etkileri geçicidir. Göz ve mukoza irritasyonu yapar. Kronik teması sonucu deride kabuklanma ve kuruma oluşur. Karsinojenik ve mutajenik etkisi gözlenmez (Allen R ve ark., 1992; Ellenharn MJ ve ark. 1988).

İzobutil-asetat: İzobutil asetat, izobutil alkol ve asetik asitten elde edilir. İzobutil asetatın; yüksek konsantrasyonlarda narkotik etkisi olup gözlerde, burun ve boğazda irritasyon yapar. 200 ppm konsantrasyona maruz bırakıldığında şiddetli boğaz irritasyonu yaptığı rapor edilmiştir. İntoksikasyon şiddetli ise baş ağrısı, bulantı, kusma, baş dönmesi, santral sinir sistemi depresyonu ve bilinç kaybı gözlenir (Allen R ve ark.,1992).

İzobutanol: İnhalasyonu ve deri emilimi fazla toksik değildir. Ancak göz üzerinde şiddetli toksik etkileri bulunmaktadır. Karaciğer, kalp ve böbreklerde yağ birikimine neden olup, karaciğer üzerinde karbontetraklorürün etkisini artırır. Sıçanlarda intraperitoneal kullanımı sonucu karaciğer, dalak ve mide tümörleri ve sarkomlar oluştuğunu gösteren bir çalışma mevcuttur (Allen R ve ark.,1992).

2.1.2. Tinerin Toksik Etkileri

Uçucu maddelerin inhalasyonu, sıklıkla plastik bir torba veya şişe içinden ya da kumaş üzerine dökülerek yapılmaktadır. Akut intoksikasyondaki etkileri keyif verici olup, öfori, zindelik, disinhibisyon, takiben gevşeme, baş dönmesi, görsel ve işitsel halusinasyonlar, yorgunluk ve uyku halidir (Ulakoğlu, 1998). Bugüne kadar tinerin santral sinir sistemi, böbrekler, karaciğer, akciğer ve ürogenital sistem üzerindeki etkilerini araştıran çalışmalar yapılmış ve kalıcı hasarlar meydana getirdiği saptanmıştır (Flanagan RJ ve ark.,1990; Meadows R ve ark.,1996; Ulakoğlu EZ, 1998; Ilgazlı ve ark.,2004; Martínez-Alfaro ve ark.,2014; MartínezAlfaro ve ark.,2009; Yılmaz ve ark.,2006; Gotohda ve ark.,2002; Ulakoğlu ve ark.,1998). Tinerin dokular üzerinde yarattığı etki histopatolojik olarak incelendiğinde, santral sinir sisteminde sinaptik mesafede artma, postsinaptik membran dansitesinde ve intrasinaptozomal veziküllerin sayısında azalma tespit edilmiştir. Ayrıca optik sinir miyelin kılıfında da ayrılmalar bulunmuştur (Vural N. Toksikoloji 2. Baskı, Ankara, 1996;453-80; Ellenharn MJ ve ark. 1988).

Tiner, ayrıca serebellar disfonksiyon, aritmi, optik nöropati, nöropsikiyatrik bozukluklar, periferik nöropati ve akut kas güçsüzlüğüne yol açmaktadır (Flanagan ve ark.,1990;

Meadows ve ark.,1996; Ulakoğlu ve ark.,1996). Ancak farklı uçucularda farklı katkı maddelerinin de olduğu göz önüne alınmalıdır. Tolerans gelişimi de maddenin etkisini farklılaştırmaktadır. Uçucu maddeler hızla başlayan ve hızla geçen bir iyilik haline neden olurlar. Uçucuların etkisi alkol ve sedatif ilaçların etkilerine benzer (Wu ve ark., 2006).

Kronik uçucu madde kullanımında yorgunluk, tremor, koordinasyon bozukluğu, periferik nöropati, parestezi, serebellar işlev bozuklukları, parkinsonizm, optik nöropati, kranial nöropati (genellikle V. sinir ve VII. sinir) kronik ensefalopati, demans (kurşunlu gazolinin yol açtığı demans veya toluene bağlı beyaz madde demansı) gibi nörolojik belirtiler ve duygudurum bozuklukları görülür. Nöropsikiyatrik işlev bozuklukları beyaz madde hasarıyla uyumludur (Sakai ve ark., 2009; Wu ve ark., 2006). Beyin görüntüleme çalışmaları kronik kullanımda, serebrum, serebellum ve beyin sapında yaygın atrofi, ventriküler dilatasyon ve sulkuslarda genişleme olduğunu göstermiştir (Sakai ve ark., 2009; Wu ve ark., 2006). Uçucu madde bağımlılarında beyin görüntüleme çalışmalarıyla ortaya konan yıkım, diğer madde bağımlılıklarındakilere göre daha fazla ve ağırdır. Uçucu madde kullananların % 70'inde yaşam boyu süren bir duygudurum, anksiyete ve kişilik bozukluğu saptanır. Kronik toluen kullanımı, şizofrenideki psikotik bulgulara benzer değişiklikler oluşturabilir (Sakai ve ark., 2009; Wu ve ark., 2006). Çalışmalarda organik solventlerin hücre hasarındaki toksik etkilerini reaktif oksijen ürünleri (ROS) oluşumu yolu ile gösterdikleri bildirilmiştir (Mattia ve ark., 1991). Süperoksit anyonu, ferril ve hidroksil iyonları gibi reaktif oksijen ürünlerinin lipid peroksidasyonunu başlattığı bilinmektedir. Dokularda ROS'un yaptığı hasar lipid peroksidasyon düzeyinin ölçümü ile belirlenmektedir. Biyolojik membranlarda lipid peroksidasyonuna yol açan ROS oluşumu membran fonksiyonlarının bozulmasına neden olmaktadır (Lebel ve ark., 1990).

2.2. Bağımlılık

Bağımlılık, bir maddenin amacı dışında ve o maddeye karşı gelişen tolerans sonucu, gittikçe artan miktarlarda alınması, kişinin yaşamında sorunlara neden olmasına rağmen kullanımının sürdürülmesi ve madde alımı azaltıldığında ya da bırakıldığında yoksunluk belirtilerinin ortaya çıkması ile giden tablodur. Bağımlılık yapıcı maddelerin ortak özellikleri kendi alımlarını pekiştirici etkide bulunmalarıdır (Işık E. Erişkinlerde klinik psikofarmakoloji. In Güncel Temel ve Klinik Psikofarmakoloji. (Eds E Işık, T Uzbay):

337-359. İstanbul, Golden Medya Baskı, 2009. 2. Uluğ B. Alkol kullanımı ile ilişkili bozukluklar. In Psikiyatri Temel Kitabı (Eds C Güleç, E Köroğlu): 161-172. Ankara, HYB Basım Yayın, 2007). Beyindeki ödül sistemi üzerindeki etkileri maddenin keyif verici özelliğine ve kişinin tekrar tekrar kullanarak bağımlı olmasına neden olur. Bağımlı kişi, yaşadığı olumsuz sonuçlara rağmen, bağımlı olduğu maddeyi kompulsif bir biçimde kullanmayı sürdürür. Son 50 yılda depresyon, şizofreni gibi hastalıkların farmakolojik tedavisinde önemli gelişmeler olmuş ve bu hastalıkların tedavisinde etkili onlarca farmakolojik ajan piyasaya çıkmıştır (López-Muñoz ve ark., 2004). Bağımlılık psikofarmakolojisindeki gelişmeler ise psikiyatrinin diğer alanlarına göre daha yavaş bir seyir göstermiştir. Ancak alkol ve madde bağımlılığının nörobiyolojisi konusunda bilgilerimiz arttıkça tedavi seçenekleri de paralel olarak artış göstermektedir. Nörotransmitter ve reseptör düzeyinde artan bilgiler ışığında, özellikle istek ve nükslerin önlenmesi konusunda son dönemlerde pek çok çalışma yapılmakta, tedavi arayışları devam etmektedir (Arıkan, 2010).

Uçucu madde bağımlılığı çocuk ve ergenlerde sık karşılaşılan ve yaş geçtikçe daha az görülen bir bağımlılık türüdür. Uçucu maddeler piyasada serbestçe satılan birçok üründe yer alan maddelerdir. Ani ölümlere ve birçok nöropsikiyatrik etkilere yol açabilirler ve tıbbi açıdan birçok sistemde yan etki ortaya çıkarırlar. Bağımlılığı, tüm dünyada yaygın olarak görülür. Sigara ve esrardan sonra en sık kullanılan bağımlılık yapıcı maddeler uçucu maddelerdir (Williams ve ark., 2007).

2.3. Nuc. accumbens

Nuc. accumbens, nuc. caudatus'un caputu ile putamenin birbirleriyle devamlılık gösterdiği bölümünde konumlanan bir çekirdektir. Yoğun dopaminerjik lifler ve limbik system bağlantıları nedeni ile ödül döngüsünde dolayısıyla madde bağımlılığın da konumlanır. Çekirdek ve kabuk olmak üzere iki kısmı vardır. Ödül merkezi olarak anılan nuc. accumbens, motivasyon ve nefretin bilişsel olarak işlenmesinde görev alır. Ödül, motivasyon ve karar verme ile ilgili bir merkezdir. Bu anatomik bölge, tekrarlayan ilaç maruziyeti sonucunda davranışsal duyarlılığın tanımlanmasında kritik öneme sahiptir (O'Donnell, 2010). Kötü amaçla kullanılan uyuşturucuların ödül ve güçlendirici etkisine ve duygusal bir uyarının davranışlara dönüştürülmesine tepki verilmesinde önemli bir

role sahiptir (Conn, 2017). Psikomotor uyarıcı olan bazı madde bağımlılığı yapan ilaçların geçici olarak insana hissettirdiği mutluluk duygusunun, nuc. accumbens içindeki dopamin transmisyonuna bağlı olduğuna inanılmaktadır ve bunun da mezolimbik dopaminerjik sistem tarafından olduğu kabul edilmektedir. Sonuç olarak, nuc. accumbens, fonksiyonel olarak motivasyonun ödüllendirici etkisinde kritik bir rol oynar (Conn, 2017). Nuc. accumbens mezolimbik sistemin bir parçasıdır ve beyin sapında ventral tegmental alandan dopaminerjik projeksiyonlar alır ve çıkan lifler ise ventral pallidum'a gider. Buradan thalamus'un nuc. mediodorsalis'ine uğradıktan sonra prefrontal korteks'e ulaşır (Wright, 2012; Ozan H. Ozan Anatomi. 3rd ed. Ankara: Klinisyen Tıp Kitabevleri; 2014). Nuc. accumbens, limbik sistem ve motor sistem arasında fonksiyonel bir arayüz görevi görür. Ventral tegmental alan, amygdala, hippocampus, bazal ganglion ve retiküler formasyon ile karşılıklı bağlantılara sahiptir (Conn, 2017).

2.4. Serbest Radikaller

Serbest radikaller dış yörüngelerinde eşlenmemiş elektron bulundurmaları nedeniyle diğer bileşiklerden farklı kimyasal bileşiklerdir. Bu eşlenmemiş elektron nedeniyle kararsız yapıda bulunan serbest radikal molekülünün kararlı hale geçebilmek için elektronunu başka bir elektron ile eşleştirmesi gerekmektedir. Bu nedenle de serbest radikaller oldukça aktif moleküllerdir. Moleküler oksijen (O_2), paralel spin durumlu iki ortaklanmamış (eşleşmemiş) elektrona sahiptir. Ortaklanmamış (eşleşmemiş) elektron içeren atom, atom grubu veya moleküller serbest radikal olarak tanımlanırlar. Ancak Fe^{+3} , Cu^{+2} , Mn^{+2} ve Mo^{+5} gibi geçiş metalleri de ortaklanmamış elektronlara sahip oldukları halde serbest radikal olarak kabul edilmezler, fakat serbest radikal oluşumunda önemli rol oynarlar. Serbest radikaller pozitif yüklü (katyon), negatif yüklü (anyon) veya elektriksel olarak nötral olabilirler. Serbest radikal tanımına göre moleküler oksijen, bir biradikal (diradikal) olarak değerlendirilir (Prauchner, 2016).

2.4.1. Reaktif Oksijen Türleri

Reaktif oksijen türleri, hücre zarında bulunan doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuna neden olarak asıl toksik etkilerini gösterirler (Bianchi ve ark.,1997; Lebensztejn ve ark. 1985). Lipid peroksit radikalleri, bir yandan hücre membranındaki diğer doymamış yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumuna yol açarken diğer taraftan açığa

çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid peroksitlerine dönüştürler ve böylece olay kendi kendini katalizleyerek devam eder (Katz ve ark.,1996; Sözmen,2002; Bao ve ark., 1998; Maeda ve Akaike, 1991).

Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$)

Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$) hemen tüm aerobik hücrelerde moleküler oksijenin (O_2) bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur. İndirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu süperoksit radikali meydana getirebilir. Süperoksit radikali kendisi direkt olarak zarar vermez. Bu radikal anyonun asıl önemi, hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Süperoksit radikali düşük pH değerlerinde daha reaktiftir, oksidan perhidroksi radikali ($HO_2^{\cdot}$) oluşturmak üzere protonlanır. H^+ , Süperoksit radikali ve perhidroksi radikali birbirleriyle reaksiyona girince biri okside olur diğeri indirgenir. Bu dismutasyon reaksiyonunda moleküler oksijen ve hidrojen peroksit meydana gelir. Süperoksit radikali hem oksitleyici hem indirgeyici özelliğe sahiptir. Örneğin ferrisitokrom c ya da nitroblue tetrazolium ile reaksiyonunda indirgeyici olarak davranarak bir elektron kaybeder ve moleküler oksijene okside olur. Süperoksit radikali epinefrinin oksidasyonunda oksidan olarak davranarak bir elektron alır ve hidrojen peroksit (H_2O_2) indirgenir. Süperoksit radikalının fizyolojik bir serbest radikal olan nitrik oksit ($NO^{\cdot}$) ile birleşmesi sonucu bir reaktif oksijen türü olan peroksinitrit ($ONOO^-$) meydana gelir. Peroksinitrit, nitrit (NO_2^-) ve nitrat (NO_3^-) oluşturmak üzere metabolize edilir. Peroksinitrit, azot dioksit ($NO_2^{\cdot}$), hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$), nitronyum iyonu (NO_2^+) gibi toksik ürünlere dönüşebilir ki nitrik oksitin ($NO^{\cdot}$) zararlı etkilerinden peroksinitrit sorumludur (Bhardwai ark., 2016; Praucher, 2016; Komeri ve ark., 2017; Andre ve Villain, 2016).

Hidrojen peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksitin çevresindeki moleküllerden bir elektron alması veya moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması sonucu oluşan peroksitin iki proton (H^+) ile birleşmesi sonucu meydana gelir (<http://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01.pdf> 14.06.2015). Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksitin asıl üretimi, süperoksitin ($O_2^{\cdot-}$) dismutasyonu ile olur. İki süperoksit molekülü, süperoksitin dismutasyonu reaksiyonunda iki proton alarak hidrojen peroksit

ve moleküler oksijeni oluştururlar. Bu reaksiyon, radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden dismutasyon reaksiyonu olarak bilinir, ya spontan gerçekteşir ya da süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından katalizlenir. Spontan dismutasyon pH 4,8'de en hızlıdır, enzimatik dismutasyon ise spontan dismutasyonun nispeten yavaş olduğu nötral ya da alkali pH'da daha belirgindir. Hidrojen peroksit serbest radikal olmadığı halde reaktif oksijen türleri (ROS) kapsamına girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü Fe^{+2} veya diğerk geçiş metalllerinin varlığında Fenton reaksiyonu sonucu, süperoksit radikalının ($O_2^{\cdot-}$) varlığında Haber-Weiss reaksiyonu sonucu en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$) oluşur. Süperoksit radikalının lipid solubilitesi sınırlı olduğu halde hidrojen peroksit lipid solubldır. Bu nedenle hidrojen peroksit kendisinin oluştuğu yerden uzakta olan fakat Fe^{+2} içeren membranlarda hasar oluşturabilir (Bhardwai ark., 2016; Praucher, 2016; Komeri ve ark., 2017; Andre ve Villain, 2016).

Hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$)

Hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$), Fenton reaksiyonu ve Haber-Weiss reaksiyonu sonucu hidrojen peroksitten oluşmaktadır. Ayrıca suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda oluşur. Hidroksil radikali son derece reaktif bir oksidan radikaldır, yarılanma ömrü çok kısadır. Hidroksil radikali olasılıkla reaktif oksijen türlerinin (ROS) en güçlüsüdür. Oluştuğu yerde tiyoller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak tiyil radikalleri ($RS^{\cdot}$), karbon merkezli organik radikaller ($R^{\cdot}$), organik peroksitler ($RCOO^{\cdot}$) gibi yeni radikallerin oluşmasına ve sonuçta büyük hasara neden olur (Bhardwai ark., 2016; Praucher, 2016; Komeri ve ark., 2017; Andre ve Villain, 2016).

Singlet oksijen

Bir radikal oksijenin elektronlarından birinin enerji alarak kendi spininin ters yönünde olan başka bir orbitale yer değıştirmesiyle singlet oksijen oluşur. Singlet oksijen, eşleşmemiş elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür, delta ve sigma olmak üzere iki çeşidi bulunmaktadır (Bhardwai ark., 2016; Praucher, 2016; Komeri ve ark., 2017; Andre ve Villain, 2016).

Nitrit oksit

Nitrit oksit ($\text{NO}^\cdot$), tek sayıda elektron içeren renksiz gaz halinde bulunan inorganik bir serbest radikaldir. Hücre içeresindeki nitrit oksit konsantrasyonu arttığı zaman nöron ölümü ile sonuçlanan toksik olaylar meydana gelir. $\text{NO}^\cdot$ sentezi bazı hücrelerde bir reseptöre bir stimülatörün bağlanmasına veya nöronlarda bir sinir uyarısına yanıt olarak meydana gelir (<http://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01.pdf> 14.06.2015). Nitrit oksit ($\text{NO}^\cdot$) Fe-S proteinlerinden demiri çıkararak yerine kendisi bağlanır, böylece Fenton reaksiyonunu stimüle eder ve bu mekanizma ile karsinogeneziste rol oynar. Nitrit oksitin süperoksit dismutaz (SOD) enzimiyle yarışmaya girmesi ve süperoksit ($\text{O}_2^{\cdot-}$) radikaliyle etkileşmesi sonucu peroksinitrit (ONOO^-) oluşur. Böylece nitrit oksitin fizyolojik etkisi inhibe edilir, oksidatif etkisi ortaya çıkar. Vasküler tonusun düzenlenmesi için süperoksit ($\text{O}_2^{\cdot-}$) ve nitrit oksit ($\text{NO}^\cdot$) arasındaki fizyolojik dengenin önemli olduğu ileri sürülmektedir. Peroksinitrit, nitrit oksit toksisitesinin başlıca sorumlusudur. Peroksinitritin proteinlere doğrudan zararlı etkileri vardır ve azot dioksit ($\text{NO}_2^\cdot$), hidroksil radikali ($\text{OH}^\cdot$), nitronyum iyonu (NO_2^+) gibi toksik ürünlere dönüşür (Bhardwai ark., 2016; Praucher, 2016; Komeri ve ark., 2017; Andre ve Villain, 2016).

2.5. Serbest Oksijen Radikallerinin Oluşturduğu Oksidatif Hasar

Serbest radikaller; lipid, protein, karbonhidrat, nükleik asit gibi çeşitli biyolojik makromoleküllerinin oksidatif hasarına sebep olur. Oksijen toksisitesi; inflamasyon, yaşlanma, hipertansiyon, iskemik hasar, karsinogenezis, mutagenesis, nörolojik, immünolojik, ürolojik hastalıklar ve sindirim sistemi enfeksiyonu, göz, deri, akciğer ve karaciğer hastalıkları serbest radikallerle ilgili oldukları kanıtlanan hastalıklardandır (Bhardwai ark., 2016; Praucher, 2016; Komeri ve ark., 2017; Andre ve Villain, 2016).

2.5.1. Proteinler Üzerine Etkisi

Serbest radikallerin etkisiyle proteinlerde; agregasyon, karşı bağ ve floresan oluşumu gözlenir. Floresan oluşumunun nedeni proteinlerin lizin aminoasidinin epsilon amino grubuna malondialdehitin bağlanmasıyla Schiff bazı protein-protein ya da protein-lipit çapraz bağlarının oluşumudur. Lipit peroksit-protein interaksiyonu üzerine olan çalışmaların çoğu sülfidril gruplarının oksidatif duyarlılığından dolayı sülfür içeren aminoasitlerle in vitro olarak yapılmıştır. Lipid peroksidasyonunun fenil alanin, tirozin,

metiyonin, glutamik asit, serin, arginin gibi aminoasitlerde değişik düzeylerde yıkıma neden olabileceği bildirilmektedir (Bhardwai ark., 2016; Praucher, 2016; Komeri ve ark., 2017; Andre ve Villain, 2016).

2.5.2. Karbonhidratlar üzerine etkisi

Fizyolojik pH ve sıcaklıkta glikoz gibi monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucunda hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehitler oluşur. Glikozaminoglikan olan ve synovial sıvının viskozitesinde önemli rol oynayan hyaluronik asit, oksijen tarafından depolimerize olarak, bağ dokunun stabilitesinin bozulmasına ve sıvının viskozitesinin kaybına neden olmaktadır (Bhardwai ark., 2016; Praucher, 2016; Komeri ve ark., 2017; Andre ve Villain, 2016).

2.5.3. Nükleik asitler üzerine etkisi

Serbest radikaller DNA'yı etkileyerek nükleik asit modifikasyonlarından doğan kromozom değişikliklerine bağlı olarak hücrede mutasyona yol açarlar. DNA'ya karşı oksidatif hasar, normal metabolik durumlarda da yüksek oranda meydana gelir. Vücudumuzdaki her bir hücredeki DNA her gün 104 oksidatif hasara maruz kalarak 20'den fazla farklı oksidatif DNA lezyonunun oluşumuna yol açar. Bu lezyonların çoğu mutajenik olarak bilinir. Bu lezyonları iyileştirebilen spesifik glikozilaz, endonükleaz gibi DNA tamir enzimleri vardır. Bununla birlikte bu tamir mekanizmaları mükemmel değildir. Bu mekanizmalar lezyonların %99'unu temizlemesine rağmen % 1'i kalır ve bu da zamanla lezyonların birikimine yol açar. Sonuç olarak oksidatif DNA hasarı ve mutasyonları yaşla artar (Bhardwai ark., 2016; Praucher, 2016; Komeri ve ark., 2017; Andre ve Villain, 2016).

2.5.4. Lipidler Üzerine Etkisi

Serbest radikallerin en önemli etkisi lipitler üzerine yaptığı etkidir ki bu lipid peroksidasyonu olarak adlandırılır ve üç aşamada incelenebilir (Bhardwai ark., 2016; Praucher, 2016; Komeri ve ark., 2017; Andre ve Villain, 2016).

a) Başlangıç Aşaması

Lipid peroksidasyonu doymamış yağ asitlerinin serbest radikallerle etkileşmesi sonucu doymamış yağ asidindeki metilen grubundan bir hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile

başlamaktadır. Biyolojik sistemlerde bu radikal süperoksit anyon radikali ile hidroksil radikaline dönüşmektedir. Benzer şekilde hidrojen peroksitin de hidroksil radikaline dönüştüğü bilinmektedir. Bu nedenle lipid peroksidasyonunu başlıca hidroksil radikali başlatmaktadır.

Radikal, lipid molekülünden bir hidrojen atomu çıkartarak karbon merkezli lipid radikaline oluşmasına yol açmaktadır (Bhardwai ark., 2016; Praucher, 2016; Komeri ve ark., 2017; Andre ve Villain, 2016).

b) Zincir Aşaması

Bu aşamada hidrojen atomunun koparılmasıyla oluşan serbest yağ asidi radikali moleküler oksijen ile reaksiyona girerek peroksit radikalini oluşturur. Oluşan peroksit radikali yüksek reaksiyon yeteneğine sahip olup başka bir yağ asidi molekülü, bir hidroperoksit ve yeni bir yağ asidi radikali oluşturacak şekilde reaksiyona girer. Oluşan bu yağ asidi radikali yeniden oksijen ile birleşir ve RH'dan yeniden bir H⁺ ayrılmasını sağlar. Bu başlayan zincir reaksiyonu oluşan yeni radikallerin etkisiyle devamlı olarak artan bir hızda devam eder. Bir çok olayda bu şekilde oluşan lipid peroksidi, RO[•] ve OH[•] verecek şekilde parçalanır ve oluşan bu radikaller hemen substrat ile reaksiyona girerek yeni bir zincir reaksiyonunu başlatacak olan R[•] radikallerini oluştururlar. Böylece oluşan bir radikal sürekli olarak yeni radikallerin oluşmasına neden olur. Lipid peroksitleri hücre zarlarının önemli bir komponentidir ve Fe⁺³, Cu⁺² gibi geçiş metallerinin varlığında alkoksi ve peroksi radikallerini verirler. Bu nedenle Fe ve Cu tuzları lipid peroksidasyonunun hızını arttırırlar. Sonuçta hücre zarının akışkanlığı ve permeabilitesini arttırarak zar bütünlüğünün bozulmasına yol açarlar. Lizozomal membranların tahribi hidrolitik enzimlerin salınmasına ve intraselüler sindirime neden olur. Biriken hidroperoksitler direkt olarak ya toksiklerdir ve duyarlı aminoasit kalıntılarını okside eder veya zincir polimerizasyon reaksiyonlarıyla enzimleri inaktive edebilirler (Bhardwai ark., 2016; Praucher, 2016; Komeri ve ark., 2017; Andre ve Villain, 2016).

c) Zincir uzamasının durması ve ikincil ürünlerin oluşması

Hidroperoksitler ve bunlara bağlı olarak oluşan serbest radikaller ya birbirleriyle reaksiyona girerler, ya inaktif kondenzasyon ürünlerini verirler ve zincir uzaması durur ya da zincir uzamasının durması değişik yapı ve yetenekteki bazı bileşikler tarafından

gerçekleştirilir. Düşük konsantrasyonlarda oksitlenmeye karşı etkili ve duyarlı olan istenmeyen değişiklikleri önleyen ya da ortadan kaldıran bu bileşikler oksidasyona karşı oldukları için antioksidan olarak isimlendirilmiştir (Bhardwai ark., 2016; Praucher, 2016; Komeri ve ark., 2017; Andre ve Villain, 2016).

2.6. Antioksidan Savunma Sistemleri

ROS'un vücutta meydana getirdiği hasarları önlemek üzere vücutta görev yapan savunma sistemlerine, antioksidan savunma sistemleri adı verilir. Serbest oksijen radikalleri ile ilgili teori yaklaşık 50 yıl önceden beri bilinse de, son 20 yılda antioksidanların hastalıklara karşı koruyucu etkisi önem kazanmıştır. Antioksidan olarak hareket edebilen birçok farklı madde bulunmaktadır. Antioksidanlar, okside edilebilen bir substrata göre düşük konsantrasyonlarda bulunduğu, o substratın oksidasyonunu geciktiren veya önleyen meddelerdir (Andre ve Villain, 2016).

Antioksidanlar şu yollarla etki edebilir:

- Biyolojik olarak önemli reaktif oksijen türlerini temizleyerek (scavenger)
- Oluşumlarını önleyerek veya
- Yaptıkları hasarı onararak

Reaktif oksijen türleri insan vücudunda sürekli olarak oluşturulur ve antioksidan savunma mekanizmaları tarafından ortadan kaldırılırlar. Bu mekanizmalar birtakım enzimler ve antioksidan maddelerdir. Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler.

- 1) Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküllere çevirme toplayıcı etkidir. Antioksidan enzimler, trakeobronşiyal mukus ve küçük moleküller bu tip etki gösterirler.
- 2) Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürme bastırıcı etkidir. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.
- 3) Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etki zincir kırıcı etkidir. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.
- 4) Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması onarıcı etkidir. Antioksidanlar, endojen kaynaklı veya eksojen kaynaklı olabilirler.

Antioksidan savunma sistemi, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve glutatyon redüktaz (GR) gibi antioksidan enzimleri ve glutatyon, vitaminler (A,C,E), melatonin ve bazı eser elementleri kapsayan enzim olmayan antioksidanları içermektedir (Andre ve Villain, 2016).

Endojen antioksidanlar, enzim ve enzim olmayanlar olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar. Enzim olan endojen antioksidanlar şunlardır:

1) Süperoksit dismutaz (SOD). 2) Glutatyon peroksidaz (GSH-Px). 3) Glutatyon S-Transferazlar (GST). 4) Katalaz (CAT). 5) Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi. 6) Hidroperoksidaz. Enzim olmayan endojen antioksidanlar şunlardır: 1) Melatonin 2) Seruloplazmin 3) Transferrin 4) Miyogloblin 5) Hemogloblin 6) Ferritin 7) Bilirubin 8) Glutatyon 9) Sistein 10) Metiyonin 11) Ürat 12) Laktoferrin 13) Albümin. Eksojen antioksidanlar; vitaminler, ilaçlar ve gıda antioksidanları olmak üzere sınıflandırılabilirler.

Vitamin eksojen antioksidanlar şunlardır:

- 1) α -tokoferol (vitamin E).
- 2) β -karoten.
- 3) Askorbik asit (vitamin C).
- 4) Folik asit (folat).

İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar şunlardır:

- 1) Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten)
- 2) NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflatuar ilaçlar, diphenylene iodonium)
- 3) Rekombinant süperoksit dismutaz
- 4) Trolox-C (vitamin E analogu)
- 5) Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GSH-Px aktivitesini arttıran ebselen ve asetilsistein)
- 6) Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin)
- 7) Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin)
- 8) Nötrofil adezyon inhibitörleri
- 9) Sitokinler (TNF ve IL-1)
- 10) Barbitüratlar
- 11) Demir şelatörleri. Gıdalardaki eksojen antioksidanlar şunlardır:

- 1) Butylated hydroxytoluene (BHT)
- 2) Butylated hydroxyanisole (BHA)
- 3) Sodium benzoate
- 4) Ethoxyquin
- 5) Propylgalate
- 6) Fesuperoxyde dismutase.

2.6.1. Enzimatik antioksidanlar

Süperoksit dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz, süperoksit serbest radikalının ($O_2^{\cdot-}$) hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene (O_2) dönüşümünü katalizleyen antioksidan enzimdir. Bu reaksiyon, süperoksit anyonunun pH 11 ve altında oldukça stabil olmasına rağmen, enzim katalizi olmasa bile normal fizyolojik pH değerlerinde oldukça hızlı yürümektedir. Bununla birlikte, gerçekte tüm aerobik organizmaların SOD içerdiği belirlenmiştir. SOD enzimi reaksiyon hızını arttırmak için yeterince güçlü bir katalisttir. İnsanda süperoksit dismutazın iki izomer tipi bulunmaktadır. Cu-Zn SOD sitozolde bulunur, Cu ve Zn içerir, dimerik yapıdadır, siyanidle inhibe edilir. Mn SOD mitokondride bulunur (Andre ve Villain, 2016). SOD'nin fizyolojik fonksiyonu oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikalının ($O_2^{\cdot-}$) lipid peroksidasyonu gibi zararlı etkilerine karşı korumaktır. SOD, fagosite edilmiş bakterilerin intrasellüler öldürülmesinde de rol oynar. SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır ve doku pO_2 artışıyla artar. SOD'un ekstrasellüler aktivitesi çok düşüktür. Cu-Zn SOD'un spesifik aktivitesi Down sendromlu hastaların eritrositlerinde yüksek, prematürelerin ve yaşlıların eritrositlerinde ve psöriyazisli hastaların lökositlerinde düşük bulunmuştur (<http://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01s.pdf> 12.07.2016).

Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)

Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) sitozolde bulunur, 4 selenyum atomu içerir, tetramerik yapıdadır. Glutasyon peroksidaz hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir. Fosfolipid hidroperoksit glutasyon peroksidaz (PLGSH-Px) adı verilen enzim monomerik yapıdadır ve esas olarak membran fosfolipid hidroperoksitlerini alkollere indirger. Fosfolipid hidroperoksit glutasyon peroksidaz (PLGSH-Px) membrana bağlı en önemli antioksidan olan vitamin E yetersiz olduğunda membranı peroksidasyona karşı korur. GSH-Px'ın fagositik hücrelerde de önemli fonksiyonları vardır. Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmesini önler. GSH-Px eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkili antioksidandır. Eritrosit GSH-Px aktivitesi yaşlılarda ve Down sendromlu hastalarda yüksek, prematürelerde düşük bulunmuştur. Lökosit GSH-Px aktivitesi yaşlılarda ve hipertansiyonlu hastalarda yüksek bulunmuştur. Tiyol grupları, enzimatik reaksiyonlar

aracılığıyla ve serbest radikalleri yakalamak suretiyle görev yapan hücresel antioksidanlardır. Tiyoil grubu taşıyan bir tripeptid olan glutatyon, serbest radikallerin yıkıcı etkilerini önleyen veya azaltan transferazlar, peroksidazlar gibi birçok enzimin substratı olarak görev yapmaktadır (Bhardwai ark., 2016; Praucher, 2016; Komeri ve ark., 2017; Andre ve Villain, 2016).

Katalaz (CAT)

H₂O₂ 'i suya ve oksijene dönüştüren enzim katalazdır. Tetramerik yapıda olan katalaz, yapısında dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. En yüksek oranda karaciğer ve eritrositlerin peroksizomlarında lokalize olmuştur. Katalaz esas olarak peroksizomlarda daha az olarak sitozolde ve mikrozomal fraksiyonda bulunur. Katalaz hidrojen peroksidi (H₂O₂) suya ve oksijene parçalar. Granulomatöz hücrelerde katalaz, hücreyi kendi solunumsal patlamasına karşı koruma işlevini de görür. Hücrede oluşan hidrojen peroksit (H₂O₂) hidroksil serbest radikali (OH^{*}) oluşumunu önler (Bhardwai ark., 2016; Praucher, 2016; Komeri ve ark., 2017; Andre ve Villain, 2016).

2.6.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

C vitamini

1790 yılından beri bilinen vitamin C 1933 yılında Cglen King tarafından limondan izole edilmiştir. İzole edilmesinden hemen sonra kimyasal yapısı da açıklanmıştır (Kalaycıoğlu L, Serpek B, Nizamlioğlu M, Başpınar N, Tiftik M, A., Biyokimya. 3. Baskı, Ekim 2006).

Yağda ve organik eriticilerde erimeyen askorbik asit, beyaz kristaller halinde, katı yapıdadır ve suda erir. Askorbik asidin yapısı glikozun okside formu şeklindedir. pH'ın artması ile birlikte gümüş ve bakır iyonları tarafından askorbik asitin oksidatif parçalanması hızlanır. Dehidre formu indirgenmiş formundan daha dayanıklıdır (Kalaycıoğlu L, Serpek B, Nizamlioğlu M, Başpınar N, Tiftik M, A., Biyokimya. 3. Baskı, Ekim 2006).

Normalde hayvanlarda ve yüksek yapılı bitkilerde askorbik asit bulunur. Bu vitamin birçok hayvan türünde D-glikozdan sentezlenir. Askorbik asit sentezinde mikroorganizmaların varlığına gerek yoktur. Değişik türlerde mesela insan, maymun, kobay, bazı kuşlar ve balıklarda vitamin C sentezi yapılmaz, çünkü bu canlılarda

L-glukonolakton oksidaz enzimi genetik olarak yoktur (Kalaycıoğlu L, Serpek B, Nizamlioğlu M, Başpınar N, Tiftik M, A., Biyokimya. 3. Baskı, Ekim 2006).

Askorbik asit memelilerde karaciğerde; kuşlarda, kurbağa ve sürüngenlerde ise böbreklerde sentez edilir. En önemli askorbik asit kaynakları yeşil sebzeler, meyveler, domates ve turunçgillerdir. Oksidasyona karşı oldukça duyarlı olan vitamin C pişirme ve depolama sırasında kayba uğrar (Kalaycıoğlu L, Serpek B, Nizamlioğlu M, Başpınar N, Tiftik M, A., Biyokimya. 3. Baskı, Ekim 2006).

2.7. Melatonin

Melatonin bilinen en güçlü antioksidanlardan biridir (Mattia ve ark., 1993; Pascual ve ark., 2000). Hasara uğrayan hücrenin kendi kendini tamir etmesine yardım eden bir antioksidandır. Melatonin hidroksil ve peroksit radikallerinin güçlü süpürücüsüdür (Ozan ve ark.,2005). Melatoninin serbest radikaller üzerine dolaylı etkileri vardır.

Melatonin antioksidan enzimleri uyarır, lipid peroksidasyonunu engeller ve beyin dokusunu oksijen kaynaklı serbest radikallerden korur.

Melatonin, Melatonin, N-asetil-5-metoksitriptamin, pineal bez hücreleri tarafından salgılanan bir hormondur. Melatonin iki enzimin etkisi ile seratoninden sentezlenmektedir (Wurtman ve Axelrod, 1960). Enzimlerden biri N-asetil transferazdır (NAT) ve seratoninin asetile edilmesini sağlarken; diğeri ise hidroksiindol-o-metiltransferaz (HIOMT) olup, indol halkasının metile edilmesinde görevlidir (Claustrat ve ark, 2005). Pineal bezde seratonin miktarı gündüz yüksek gece ise düşüktür, ışık şiddeti ve süresi bezdeki seratonin miktarını değiştirir, bezdeki melatonin miktarı ise seratoninin tersi yöndedir; yani melatonin sentezi gündüz az iken gece çoktur. Gece seratonin miktarının azalması da melatonin sentezinin artmasından dolayıdır. Gece pineal bezde, kanda, serebrospinal sıvıda ve idrarda melatonin miktarında artma meydana gelir (Ratzburg ve ark.,2013; Çam ve ark.,2003; Mollaoğlu ve ark.,2005). Gözde başlayan sinir impulsunun pineal bezden hormon salınması ile sonuçlanmasındaki olaylar dizisi şu şekildedir. Sempatik sinir uçlarından salınan norepinefrin pineal hücreleri etkiler. Pineal bez hücreleri β -adrenerjik reseptörler yoluyla etkilenince, siklik nükleotid sistemi aktive edilir, N-asetil transferaz enzimi sentezlenir veya aktive edilir ve melatonin sentezi başlar

(Wurtman ve Axelrod, 1960). Endojen melatoninin büyük oranda pineal bezde yapıldığı ve yapımından sorumlu tek organın pineal bez olduğu bilinmekle beraber; son yıllarda özellikle diffüz nöroendokrin sistemin bir parçası olarak kabul edilen APUD (Amine Precursor Uptake Deamin) hücrelerinde de önemli miktarlarda melatonin olduğu belirlenmiştir (Ustundag ve Canatan, 1999).

Melatonin en zararlı serbest radikal olan hidroksil serbest radikalini ($\text{OH}\cdot$) ortadan kaldıran çok güçlü bir antioksidandır, günümüze kadar bilinen antioksidanların en güçlüsü olarak kabul edilmektedir. Melatonin hidroksil serbest radikali ($\text{OH}\cdot$) ile reaksiyona girdikten sonra bir indolil katyon radikaline dönüşür ki bunun da ortamdaki süperoksit anyon radikalini (O_2^-) tutarak antioksidan aktivite gösterdiği kaydedilmiştir. Melatoninin antioksidan olarak diğer bir özelliği lipofilik olmasıdır, hücrenin hemen bütün organellerine ve hücre çekirdeğine ulaşabilir ve böylece çok geniş bir dağılımda antioksidan aktivite gösterir. Serbest oksijen radikalleri oluşturmak suretiyle kansere sebep olan safrolün DNA üzerine hasar oluşturunca etkisinin, melatonin tarafından çok etkili şekilde inhibe edildiği gösterilmiştir. Melatonin kanserin ilerleme ve gelişme safhalarını geciktirir. Yaşlanma ile birlikte melatonin üretimi de azalır ki bunun da yaşlanma ve yaşlanmaya bağlı hastalıkların patogeneğinde önemli rolü olabileceği kaydedilmiştir.

2.7.1. Melatoninin Görevleri

Melatoninin Antioksidan Etkisi

Melatoninin bir antioksidan olduğu, literatürde ilk kez 1991 yılında Ianas ve ark (Ianas ve ark., 1991) tarafından öne sürülmüş ve daha sonra yapılan in vitro (Reiter, 1993; Tan, 1993; Pakkila, 1998) ve in vivo (Giusti, 1996; Yamamoto ve Tang, 1996) çalışmalarla desteklenmiştir. Bu çalışmalar birlikte değerlendirildiğinde MEL'in antioksidan özelliği sıralanırsa;

1. Direkt antioksidan etki: MEL'in $\text{HO}\cdot$, H_2O_2 , $\text{O}_2\cdot$, HOCl , $\text{NO}\cdot$, ONOO^- gibi oksidatif strese yol açabilen serbest radikalleri detoksifiye ettiği ve böylece onların biyomoleküller üzerindeki zararlı etkilerini önleyebildiği bildirilmektedir (Beyer ve ark., 1998; Reiter ve ark., 2000). MEL'in antioksidan özelliği, yapısında bulunan pirol halkasından kaynaklanmaktadır. Fizyolojik şartlarda pek çok indol MEL'e benzer şekilde yıkılsa da,

O₂⁻ varlığında, MEL'in pirol halkasının indolamin2,3-dioksijenaz (IDO) ile enzimatik ya da hemin ile nonenzimatik olarak yıkımı, yüksek reaktiviteye sahip, N-1-asetil-N-2-formil-5-metoksikinüramin (AFMK) oluşumuyla sonuçlanmaktadır (Hardeland ve ark., 1993). MEL'in H₂O₂ varlığında da AFMK oluşturduğu ve bu metabolitin radikal tutucu aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Reiter ve ark., 2000). Çeşitli antioksidanların gücünü belirlemek amacıyla yapılan karşılaştırmalı çalışmalar, MEL'in en güçlü antioksidanlardan biri olduğunu göstermektedir. 2. Antioksidan Enzim Aracılı Etki: Farmakolojik ve muhtemelen fizyolojik düzeylerdeki MEL'in, SOD, GSH-Px, GSSG-Rd, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) ve g-glutamilsistein sentetaz gibi bazı antioksidan enzimlerin gen ekspresyonlarını ya da aktivitelerini arttırdığı ve bu yolla oksidatif stresi baskıladığı bildirilmektedir (Beyer ve ark., 1998; Reiter ve ark., 2000).

2.8. Kortistatin

Kortistatin, beyin korteksinde baskın ifadeye sahip bir nöropeptittir ve buradan tanımlanmıştır (de Lecea ve ark., 1996). Kortistatin, somatostatin (SST) ile çeşitli seviyelerde dikkate değer bir homoloji sunar, muhtemelen her iki genin de ortak bir atadan kalma genden evrimleşmiş olması ve işlenmiş, olgun ürünleri güçlü görünen ön-pro-peptitler oluşturmak üzere transkripsiyonu ve transkripsiyonu yapılmış olması gerçeğinden kaynaklanmaktadır. fonksiyonel ve farmakolojik benzerlikler (Gahete ve ark., 2010; Tostivint ve ark. 2006). İnsanlarda, Kortistatin 17 amino asit (aa) içerirken, somatostatin 14 aa'ya sahiptir ve disülfid köprüsü dahil 11 aa'yı paylaşırlar ve yakın farmakolojilerini açıklayabilen reseptör bağlanması için çok önemli bir çekirdek olan bir FWKT motifidir. Sonuç olarak, beş somatostatin reseptör alt tipine (sst1–sst5) karşılaştırılabilir afinite ile bağlanırlar (Fukusumi ve ark., 1997; Moller ve ark., 2003) buna rağmen, kortistatin ve somatostatin yalnızca analog değildir, çünkü ters farmakoloji, somatostatinin değil, yalnızca kortistatinin Mas ile ilişkili gen 2 reseptörünü (MrgX2) bağlayabildiğini (Robas ve ark., 2003) ve ayrıca ghrelin reseptörü 1a'yı (GHS) aktive ettiğini ortaya çıkarmıştır. -R1a). En ilginç, her iki peptidin de yakın zamanda insanlarda keşfedilen sst5 tepesi kesik reseptör varyantları aracılığıyla farklı tepkiler sergilediği bulunmuştur (Durán-Prado ve ark. 2009), fareler (Córdoba-Chacón ve ark., 2010) ve domuzlarda (Durán-Prado ve ark., 2012).

Kortistatin, çeşitli fizyolojik ve hastalık süreçlerinde (Morell ve ark., 2014; de Lecea ve ark., 1996) farklı özellikler sergileyen bir siklik nöropeptittir. Ayrıca kortistatin, dejeneratif ve inflamatuvar durumların farmakolojik yönetimi için çekici bir adaydır (Gonzalez-Rey ve ark., 2007; Duran-Prado ve ark., 2013; Gruber ve ark., 2014). Ayrıca yakın tarihli bir çalışma, kortistatin'in metabolizmayı iyileştirdiğini, apoptozu baskıladığını ve TNF-a ile indüklenen kondrositlerde inflamasyonu azalttığını ve kortistatin'in osteoartritte eklem kıkırdağının dejenerasyonuna karşı savaştığını gösterdi (Zhao ve ark., 2019) .

Kortistatin, bir FWKT tetramer içeren küçük moleküllü biyoaktif bir peptittir. Sinir, bağışıklık ve endokrin sistemlerde yaygın olarak dağılır. Birçok çalışma, CST'nin birçok biyolojik etki gösterebileceğini göstermiştir, örneğin: uykuyu, öğrenmeyi ve hafıza süreçlerini düzenlemek, bağışıklık toleransını uyarmak, inflamatuvar yanıtları inhibe etmek ve endokrin metabolizmasını düzenlemek. Özellikle, CST ve reseptörlerinin aort, koroner arterler ve kalp gibi kardiyovasküler sistemde de yaygın olarak dağıldığı bulunmuştur (Liang ve ark., 2019).

GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Denekler

Çalışmamızda, Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Ünitesi'nden temin edilen yaklaşık 400-450gr ağırlığında *Rattus norvegicus* türü toplam 90 adet, genç erkek Wistar sıçan kullanıldı.

3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Çalışmamızdaki *Rattus norvegicus* türü 400-450 gram ağırlığında 90 adet genç erkek Wistar sıçan kullanıldı. Denekler toplam 9 gruba ayrıldı (Tablo: 3.1). Denekler üzerinde yapılacak tüm işlemler Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanı Bakım ve Kullanım Kurulunun değerlendirmesine sunulurak onay alındı.

Tablo 3.1. Rat gruplarının sayısal dağılımı

Gruplar	Denek Sayısı	Tiner	Kortistatin	Melatonin	Etanol + Serum Fizyolojik	Distile Su
Grup 1 Kontrol	10	-	-	-	-	-
Grup 2 Tiner inhale	10	+	-	-	-	-
Grup 3 Tiner + Cortistatin	10	+	+	-	-	-
Grup 4 Tiner+Melatonin	10	+	-	+	-	-
Grup 5 Tiner+ Cortistatin +Melatonin	10	+	+	+	-	-
Grup 6 Etanol+Serum Fizyolojik	10	-	-	-	+	-
Grup 7 Kortistatin	10	-	+	-	-	-
Grup 8 Melatonin	10	-	-	+	-	-
Grup 9 Distile Su	10	-	-	-	-	+

RAT GRUPLARI

Rat grupları 9 gruba ayrıldı.

Grup 1 (Kontrol): Bu grupta herhangi bir işlem yapılmadı.

Grup 2: 6 hafta boyunca günde 2 kez olmak üzere birer saat tiner milipolar pompa ile inhale edildi.

Grup 3: 6 hafta boyunca günde 2 kez olmak üzere birer saat tiner milipolar pompa ile inhale edildi ve intraperitoneal olarak Kortistatin uygulandı.

Grup 4: 6 hafta boyunca günde 2 kez olmak üzere birer saat tiner milipolar pompa ile inhale edildi ve melatonin intraperitoneal olarak uygulandı.

Grup 5: 6 hafta boyunca günde 2 kez olmak üzere birer saat tiner milipolar pompa ile inhale edildi, intraperitoneal olarak melatonin ve Kortistatin uygulandı.

Grup 6: 6 hafta boyunca intraperitoneal olarak etanol + serum fizyolojik verildi.

Grup 7: 6 hafta boyunca Kortistatin intraperitoneal olarak verildi.

Grup 8: 6 hafta boyunca melatonin intraperitoneal olarak verildi.

Grup 9: 6 hafta boyunca distile su intraperitoneal olarak verildi.

Çalışma boyunca ratlara, beslenmeleri için standart ticari sıçan yemi, içme suyu olarak ise çeşme suyu verildi. Denek hayvanlarının beslenme ve su tüketimlerinde herhangi bir sınırlandırma yapılmayıp, ratların istedikleri kadar ticari yem ve çeşme suyu tüketmelerine izin verildi. Ultrastrüktürel, biyokimyasal ve histolojik analizler için sağ ve sol nuc. accumbens dokusu kullanıldı.

3.3. Deney Düzenneği

3.3.1. Tiner İnhalasyonunun Uygulanması

Araştırma Ventilasyonu, özel cam kafeslerde (100x65x72) (Şekil 3.1), sabit sıcaklık (20-22°C) ve sabit basınçta (deniz seviyesi 760 mmHg) uygulandı. Tiner; Grup 2, Grup 3,

Grup 4 ve Grup 5'e ait sıçanlara 6 hafta süre ile günde 2 kez, birer saat uygulandı. Uygulamada tiner, hava ventilasyonlu cam kafeslerde, basınçla püskürtücü pompa düzeneği ile kafes içine pulvarize edildi. Çalışmada sanayide en çok kullanılan selülozik tiner kullanıldı. Kafes içine sabit basınçta pompa ile püskürtülen tinerin bileşimindeki solventlerin solunan havadaki konsantrasyonlarını Ulakoğlu EZ ve ark. 1998 yılında yapmış oldukları çalışmaya göre belirlendi. Drager gaz detektörü (Dragerwerk, Almanya) ile günde iki kez ayrı ayrı ölçtük. Toluene 100/a, Acetone 100/b, Acetaldehyde 100/a ve Alcohol 25/a Drager gaz detektör tüpleri kullanıldı. Solventlerin kafes içindeki konsantrasyonları toluen 1800 ppm, aseton 500 ppm, isobutil asetat 7000 ppm ve isobutanol 6000 ppm olacak şekilde standardize edildi. İşlem sonunda kap içindeki havayı açık alanda atmosfere karıştırıldı. Tinerin yanıcı ve patlayıcı etkisinden dolayı, deney alanına ateşle yaklaşılmadı, deney alanı yakınında elektrik ile çalışan herhangi bir alet bulundurulmadı ve deney süresince tiner veren araştırmacılarda özel giysi, gözlük, eldiven ve maske kullanarak önlem alındı.



Şekil 3.1. Araştırma ventilasyonu özel cam kafesi.

3.4. Melatonin Uygulaması

Tiner inhalasyonu sonrası melatonin 10 mg/kg dozda, 6 hafta boyunca haftanın her günü saat 18:00-19:00 saatleri arasında günde bir kez intraperitoneal olarak enjekte edildi. Melatonin (Sigma; M5250) etanol ve serum fizyolojik içinde çözülerek hazırlandı. Ölçülecek parametrelerde melatonini çözdüğümüz etanole ve serum fizyolojik'e bağımlı olabilecek olası değişiklikleri bertaraf etmek için, Grup 6'ya her iki madde aynı hacimde olacak şekilde intraperitoneal olarak verildi.

3.5. Kortistatin Uygulaması

Tiner inhalasyonu sonrası Cortistatin 6 hafta boyunca (cumartesi ve pazar dahil) saat 18:00-19:00 saatleri arasında günde bir kez Cortistatin intraperitoneal olarak enjekte edildi. Cortistatin (Cayman; Cortistatin-29 (1-13) (rat) 2474) distile suda çözülerek hazırlandı. Ölçülecek parametrelerde Cortistatin çözdüğümüz distile suya bağımlı olabilecek olası değişiklikleri bertaraf etmek için, Grup 9'a bu madde aynı hacimde olacak şekilde intraperitoneal olarak verildi.

Deneklerin Sakrifikasyonu

Deneklerin 15 mg/kg XylazinHCl (Rompun®) ve 100 mg/kg Ketamin'in (Ketalar®) intraperitoneal enjeksiyonu ile yeterli anestezisi sağlandıktan sonra göğüs bölgesi açılarak kalbe ulaşıldı. Transkardiyal perfüzyon işlemi için, kalbin sol ventrikülüne bir kanül yardımıyla girilip sağ atrium'a bir delik açıldı. Transkardiyal perfüzyon için 250 ml heparinize serum fizyolojik ile vasküler yatak yıkanarak temizlendikten sonra aynı yolla tespit solüsyonu verildi. Fiksasyon basamağında her bir hayvan için 250 ml serum fizyolojik kullanıldı.

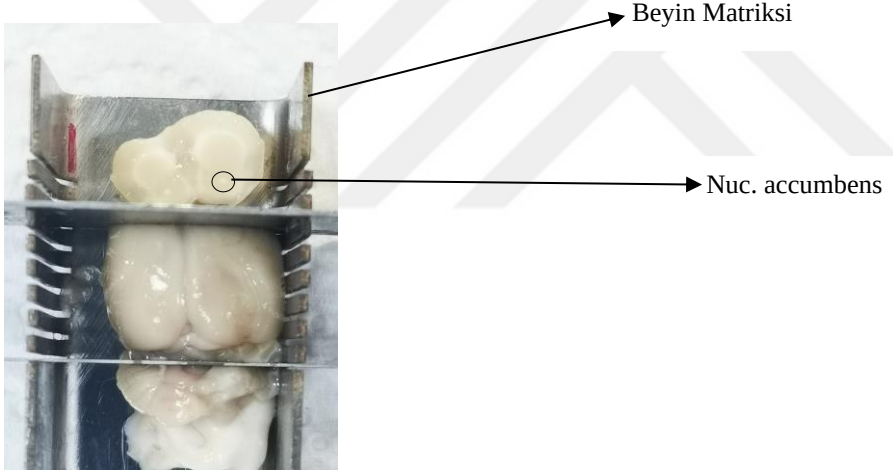
3.6. *Nuc. accumbens* Dokusunun Disseksiyonu

Tiner inhlayonunun bittiği 6. hafta sonunda deneklerin anestezisi 15 mg/kg XylazinHCl (Rompun®) ve 100 mg/kg Ketamin'in (Ketalar®) intraperitoneal verilmesi ile sağlandı. Foramen occipitale magnum'dan başlayarak nuc. accumbens dokusunun olduğu yere kadar kafa kemikleri kırıldı ve beynin totali çıkarıldı (Şekil 3.2). Total beyin, beyin matriksine yerleştirilerek nuc. accumbens'in bulunduğu 3. bölüm kesitinden çıkarıldı. Bu işlem sonrasında nuc. accumbens ayrıldı ve % 10 formalin, % 4 gluteraldehit ve PBS fiksatiflerin içine koyuldu (Şekil 3.3).

Cerrahi işlem sırasında beynin kurummasını engellemek amacıyla dokuyu, serum fizyolojik ile birkaç kez ıslatıldı. Sağ ve sol her iki nuc. accumbens, ışık mikroskopi, elektron mikroskopi ve biyokimyasal analizler için kullanıldı. Dokular, Elektron mikroskopisi için %4 gluteraldehit, ışık mikroskopi için %10'luk formaldehit, biyokimyasal analizler için ise PBS çözeltisine koyuldu.



Şekil 3.2. Kafa kemikleri içinden beynin totalinin çıkarılması



Şekil 3.3. Beyin matriksinde *Nuc. accumbens*

3.7. Işık Mikroskopi İncelemesi

Işık mikroskobunda inceleme yapmak için alınan nuc. accumbens doku örnekleri bir gün boyunca %10'luk formaldehit solüsyonunda fikse edildi. Fiksasyondan sonra formalin döküldü ve akan suyun altında 2 saat bırakılarak dokuların fiksatiften arındırılması sağlandı. Dokunun suyu, saflığı derece derece arttırılan etil alkol serilerinden geçirilerek alındı. Doku %100'lük alkolde 3 saat kaldıktan sonra alkol döküldü ve sonra ksilol 1, 2, 3 ve alkol serilerinden geçirildi. Daha sonra etüvdeki beherlere alınarak üzerlerine parafin 1 döküldü. Bir saatin sonunda parafin 1 atığa dökülerek parafin 2 eklendi ve 1 saat etüvde bekletildi. Bir saatin sonunda parafin 2 döküldü ve parafin 3 de bir saat beklemeye

bırakıldı. Bir saat sonra dokular gömülecek kaplara alındı ve üzerlerine kabı tamamen dolduracak kadar parafin 3 eklendi. Parafine gömülen dokular tahta kalıplarla bloklandı. Elde edilen bloklardan mikrotom ile almış olduğumuz 5 µm kalınlığındaki kesitler Hematoksilen-eosin boyası ile boyanarak ışık mikroskobu altında incelendi ve fotoğraflandı.

3.8. Elektron Mikroskopi İncelemesi (TEM)

Deneklerin nuc. accumbens dokusuna zarar vermeden disseke edilerek hazırlanmış %4'lük Gluteraldehit (0.1 M SFT tamponunda hazırlanmış) solüsyonunda +4 °C'da 2 saat (nuc. accumbens alındıktan sonra 1 saat gluteraldehitte bekletildi daha sonra trimleme yapıp aynı gluteraldehit şişesinde 1 saat daha bekletildi) süreyle fikse edildi. 3x10 dakikalık süreyle oda sıcaklığında 0.1 M SFT (Sörensen fosfat tamponu) 'den geçirildi. Her 10 dakikada bir rotatordan geçirildi. SFT solüsyonu ile yıkama işlemi yapıldı.

Aynı tamponda yıkanan örnekler %1'lik Osmium tetraoksit (OsO₄) solüsyonunda 2 saat süre ile rotatora bırakıldı ve postfiksasyonu sağlandı. 2 saat sonunda SFT solüsyonu ile tekrar 3x10 dakikalık süreyle oda sıcaklığında her 10 dakikada bir rotatordan geçirilerek yıkama işlemi yapıldı. Numuneler %30'dan başlayan ve daha sonra artan alkol serilerinden geçirildi. %30, %50, %70 etil alkol serilerine +4 °C'da 3x10 dakikalık süre ile bırakıldı. Dehidratasyonları sağlanıp %70'lik seri bittikten sonra 1 saat süre ile uranil asetat'a (ön boyama amacıyla) bırakıldı. 1 saat sonunda örnekler tekrar %80, %90, %96 ve %100'lük artan alkol serilerine +4 °C'da 3x10 dakikalık süre ile bırakıldı. Son dehidratasyonları sağlandıktan +4 °C'da 3x10 dakikalık süre ile sonra propilen oksitten geçirildi. Bu esnada karışım hazırlandı. Karışım 1:1 oranında, 1. Araldite ve 1 propilen oksit şeklinde hazırlanmış olup 1. Araldite ise 50 ml araldite ana karışımı ile hızlandırıcı olarak 1 ml BDMA karıştırılarak hazırlandı.

Örnekler 20 dakika karışımında (ara çözeltide) bekletildikten sonra 2-4 saat süre ile rotatora bırakıldı. Süre tamamlandıktan sonra 1. Araldite alındı ve bu aşamada şişeler değiştirildi. Araldite içerisine nuc. accumbens dokuları konurken önce fikse aralditin gitmesi için tahta bir çubuk yardımıyla filtre kağıdına konulup sonra araldite içerisine alındı ve yeni şişelerin üzerine etiket yapıştırıldı. Yeni kapakları takıldıktan sonra

25 °C'da 1 gün beklemesi için rotatora bırakıldı. Bir sonraki gün Araldite CY212 içine gömülerek bloklama yapıldı. 60 °C'a ayarlı etüvde polimerizasyon için 2 gün süre ile bırakıldı. Elde edilen bloklardan ultramikrotomla alınan 300 nm lik yarı-ince kesitler toluidine mavisi ile boyanarak ışık mikroskopta; ince kesitler almak için daha spesifik trimleme yapıldı ve ultramikrotomda 70 nm'lik ince kesitler alındı. Kontrastlama işlemine uranil asetatla başlandı ve kesitler uranil asetatla 5 dakika bekletildi. Önce distile su ile yıkandı, ardından kurşun sitratla alındı. Kurşun sitrat damlaları üzerinde 5 dakika bekletilen kesitler tekrar distile su ile yıkandı. Suyu alınmış kesitler gri renkli kartondan saklama kutusuna alındı ve elektron mikroskopik analiz için uygun hale getirildi. Elde edilen kesitler LEO 906 EM (geçirili electron mikroskop) ile incelenip fotoğraflandırıldı.

Kullanılan Solüsyonlar

1. 0.2 M Sorensen Fosfat Tamponu (SFT)

13.6 gr Kalium Dihidrojen Fosfat, 500 ml bidistile su içerisinde çözüldü (A solüsyonu).

14.2 gr Disodyum Hidrojen Fosfat, 500 ml bidistile su içerisinde çözüldü (B solüsyonu).

Ardından 1 L'lik balon jojede A ve B solüsyonları karıştırıldı, ph 7,3 olacak şekilde ayarlandı.

0.1 M Sörensens Fosfat Tamponu (SFT); 0.2 M SFT stok solüsyonu 1:1 oranında bidistile su ile dilüe edilerek hazırlandı.

2. %4'lük Gluteraldehit

%25'lik stok gluteraldehit'ten 16 ml alınıp, 84 ml 0.1 M SFT eklenerek hazırlanmıştır.

3. Osmium Tetraoksit (OsO₄) (10x100 mg; TAAB)

4. Uranil Asetat

1 gr uranil asetat, 100 ml % 75'lik etil alkol içerisinde çözülerek hazırlandı.

5. Propilen Oksit (TAAB)

6. Araldite Ana Karışımı

91 ml Araldit CY212 (TAAB)

84 ml DDSA (Dodecenylsuccinic Anhydride; TAAB)

3.9. Biyokimyasal Analiz

Lipid Peroksidaz Seviyelerinin Ölçümü

Bütün deney gruplarından 6 haftalık deney bitiminde nuc. accumbens dokusu biyokimyasal analiz elde edilmek üzere alınmıştır. Araştırmamızda lipid peroksidaz seviyesini değerlendirmek için, tiyobarbitürik asit reaktif ürünleri (TBARS) oluşumuna bakıldı. Çalışmamızda OxiSelect™ TBARS Assay Kit (STA-330) kullanıldı. Tiyobarbitürik asit lipid peroksidasyon son ürünü olan malondialdehit (MDA) ile etkileşime girmektedir.

Prensip

Bu metodun temel prensibi, lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA'nın, 2-tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyona girmesi ve oluşan bileşiğin butanol fazına ekstrakte edilerek ölçülmesi esasına dayanır. Tiyobarbitürik asit reaktif substrat (TBARS), MDA'nın biyolojik örneklerde ölçülmesi için bir araçtır. Standartlar ve MDA içeriği bilinmeyen örnekler TBA ile +95 °C'de inkübe edilir ve inkübasyondan sonra 532 nm'de spektrofotometrik ölçüm yapılır. MDA standart eğrisi kullanılarak MDA miktarı hesaplandı.

Kit Bileşenleri

1. MDA Standart
2. Thiobarbituric Acid (TBA)
3. SDS Lysis Solüsyonu
4. Sodyum Hidroksit Solüsyonu
5. 2x TBA Asit Diluenti
6. 100x BHT (Butylated hidroksitoluen)

İşlemler

Nuc. accumbens dokusu homojenitör ile homojenize edildi. Doku PBS ile yıkandı (PBS + Heparin). 1x BHT içeren PBS'de 50-100 mg civarı doku süspanse edildi. 10.000xG'de 5 dakika +4 °C'da santrifüf yapıldı ve süpernatanı alındı. Protokol basamaklarını izleyerek deney sonlandırıldı.

TBARS Düzeylerinin Hesaplanması

Standardı numune gibi çalışmış ve standart grafiği oluşturuldu. Doku ve plazma TBARS miktarı bu grafik yardımıyla hesaplandıktan sonra nmol/g protein olarak rapor edildi.

Antioksidanların Tayini

Bütün deney gruplarından 6 haftalık deney bitiminde nuc. accumbens dokusu analiz elde edilmek üzere alındı. Sağ ve sol iki adet nuc. accumbens bulunduğu için sağ ve sol nuc. accumbens median hatta önden arkaya iki eşit parçaya ayrılarak incelemeye alındı. Bu numunelerde aşağıda belirtilen şekilde antioksidan enzimlerin ölçümü yapıldı. Nuc. accumbens dokusunda antioksidanların ölçümü öncesinde numuneler homojenizatör ile homojenize edildi. Elde edilen homojenatlar 10000xG'de 15 dakika santrifüj edildi ve elde edilen süpernatantlarda antioksidan enzimler analiz edildi.

Glutasyon Peroksidaz Enzim Aktivite Tayini

Tetramerik bir enzimdir. Sitozolda bulunur, yapısında dört selenyum (Se) atomu yer alır. Hidrojen peroksit ile hidroperoksitlerin indirgenmesini sağlar. Zar fosfolipitlerinden, fosfolipaz A2 tarafından salınan lipid hidroperoksitlere etki eder. Fagositik hücrelerde önemli bir fonksiyonu vardır. GSH-Px aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksit birikimine ve hücre hasarına yol açar. GSH-Px, lipid peroksidasyonunun başlamasını önler. Bir ünite GPx aktivitesi, 1 dakikada kullanılan μmol NADPH olarak hesap edilir. GPx aktivitesi glutasyon redüktaz ile bir çift reaksiyon tarafından indirek olarak ölçülür. Glutasyon peroksidaz tarafından hidrojen peroksitin indirgenmesi ile oluşturulan okside glutasyon (GSSG), glutasyon redüktaz ve NADPH tarafından tekrar indirgenmiş formuna dönüştürülür. NADPH' ın reaksiyon ortamından kaybı 340 nm'de absorbans azalmasına neden olur ve bu azalma miktarından GPx enzim aktivitesi tayin edilir. Dokular alındıktan sonra PBS (pH:7,4) ile yıkandı. Nuc. accumbens dokusu 50mM Tris-HCl pH: 7.5, 5 mM EDT ve 1 μM DTT ile homojenize edildi. Gram doku başına 5-10 ml tampon olacak şekilde hazırlandı. 10.000xG'de 15 dakika ve +4 °C 'da santrifüj edildi. Süpernatanı deney için ayrıldı. 100 μl Assay buffer, 50 μl Co-Subsrtat Karışımı ve 20 μl örnek eklendi ve daha sonra 20 μl Cumene Hydropexide eklendi. Reaksiyon başladıktan sonra 340 nm'de 1'er dakika arayla 5 dakika ölçüm yapıldı. Deneyimizde Glutathione Peroxidase Assay Kit (Cayman 703102) kullanıldı.

Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivite Tayini

Deneklerden alınan nuc. accumbens dokuları PBS (pH: 7.4) ile yıkandı. 20 mM HEPES tamponundan (pH:7.2) 5-10 ml ile homojenize edildi. 1500xG'de 5 dakika boyunca +4 °C 'da santrifüj edildi. Süpernatanı ayrıldı ve protokol basamaklarını izleyerek deney sonlandırıldı. Çalışmamızda Superoxide Dismutase Assay Kit (Cayman 706002) kullanıldı.

Katalaz Enzim Aktivite Tayini

Peroksizomlarda ve sitozolde bulunan ve yapısında hem içeren bir protein olan katalaz, H₂O₂'in moleküler oksijen ve suya çevrilmesini katalizler. Deney gruplarından nuc. accumbens dokuları alınarak pH: 7.4 de PBS tamponunda yıkandı. 50 mM Potasyum fosfat pH:7.0 'da 1 mM EDTA içeren tamponda homojenize edildi (5-10 µl tamponunda). 10.000x G'de 15 dakika boyunca + 4 °C 'da santrifüj yapılarak süpernatanı alındı ve deney protokol basamaklarına göre yapıldı. Deneyimizde Catalase Assay Kit (Cayman 707002) kullanıldı. Katalaz enzim aktivitesinin hesaplanması oluşturulacak formaldehid standard eğrisiyle yapılır. Bir ünite katalaz aktivitesi, 1 dakikada oluşan µmol formaldehid olarak hesap edildi.

3.10. İstatiksel Analiz

Her 9 grup için rastgele beşer hayvan kesiti seçildi. Tüm gruplardan elde edilen Hematoksilen-Eozin boyaması yapılan kesitlerden nuc. accumbens tabakasının katmanları kalitatif olarak gözlemlendi. Morfolojik analizde ışık mikroskopik olarak Hematoksilen-Eozin kesitleri x 20 objektif ile görüntülenirken her katmanın kalınlığında azalma olup olmadığı değerlendirildi. Grup 1, Grup 2, Grup 3, Grup 4 ve Grup 5'teki hayvanların nuc. accumbens dokusunun katmanlarındaki hücreler ultrastrüktürel şekilde analiz edilerek gözlemlendi. Tanımlayıcı istatistikler ortalama (mean), standart sapma (SD), medyan (ortanca), minimum (min) ve maksimum (max) değerleri ile sunuldu. Biyokimyasal analizde, normallik varsayımı Shapiro-Wilk testi ile kontrol edilmiş ve veriler normal dağılım varsayımını sağlamadığı için iki grubun ölçüm değerleri arasındaki farkın analizinde Mann-Whitney U testi, ikiden fazla sayıda grubun karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi kullanılmış ve anlamlı çıkan durumlar için post-hoc test olarak Bonferroni-Dunn testi uygulandı. Her grup için zamana göre ağırlık değişimlerinin

analizinde Wilcoxon testi kullanıldı. Analizler SPSS 20.0 paket programı ile yapılmıştır. 0,05'den küçük p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi ($p < 0,05$).



BULGULAR

Tiner inhalasyonuna maruz kalan sıçanların klinik olarak ilk ortaya çıkan bulguları, deneklerin birbiri üzerine yatarak yüzlerini saklamaya çalışmaları ve araştırma için yapılan özel cam kafesin (100x65x72) köşelerine kaçma eğilimi olarak gözlemlendi. Tiner verme süresi arttıkça sıçanlarda aşırı yalanma, sık göz kırpma, ağızdan salya akma, kesik nefes alma, kafesin bir başından sonuna kadar hızlı kaçış ve fanusun içi tolueinin doygunluk derecesine (1800 ppm) ulaştığında ratların arka bacaklarında tremorlar ve dengede duramama gözlemlendi. Tiner inhalasyonunun sekizinci gününde kontrol grubundan farklı olarak tiner inhalasyonu alan deneklerde vücut kıllarında sararma meydana geldi (Şekil 4.1, Şekil 4.2). Bu sararmanın tüm deney boyunca devam ettiğini tespit edildi.



Şekil 4.1. Kontrol grubu denek



Şekil 4.2. Tiner inhalasyonu alan denek

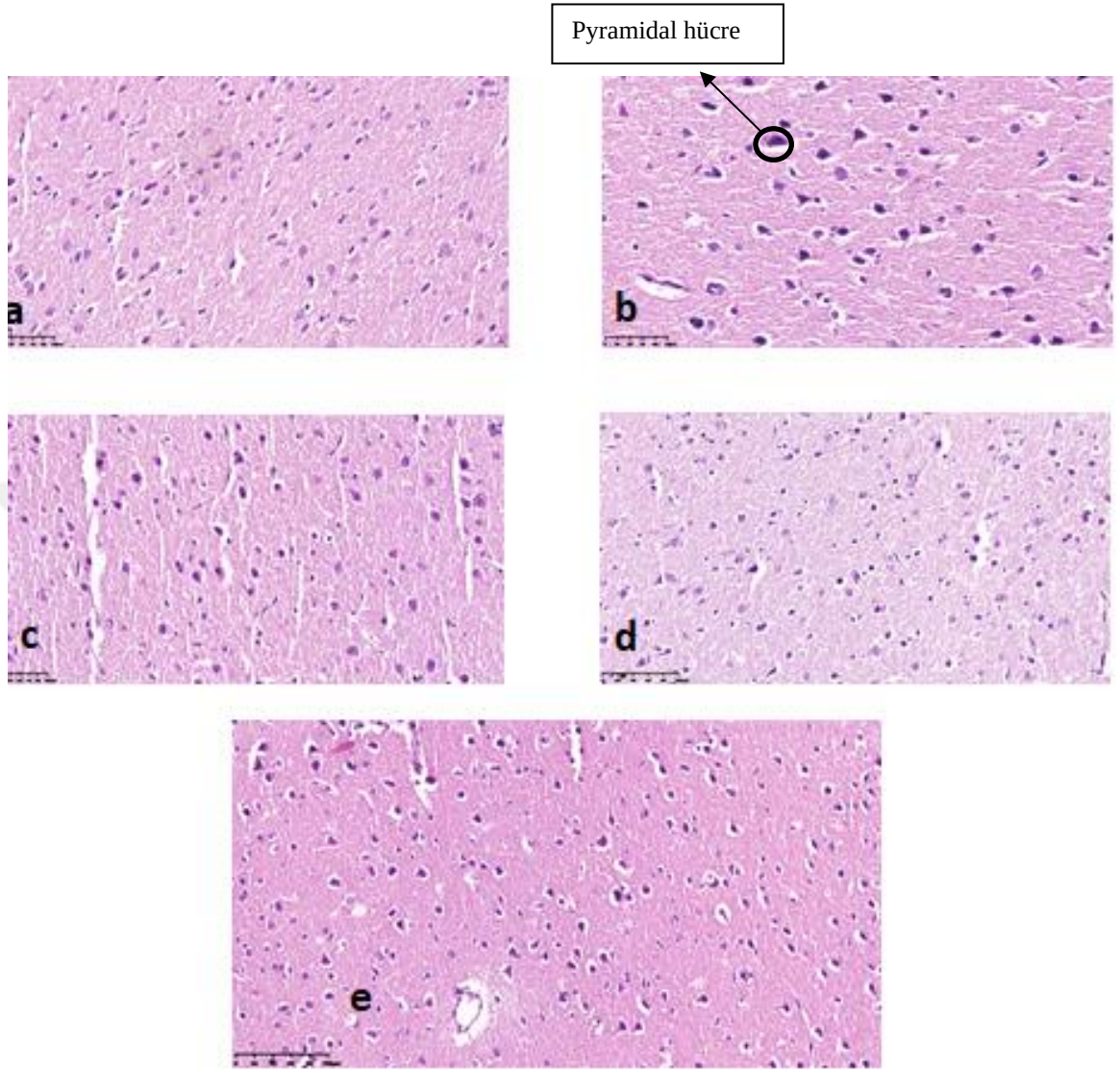
4.1. Denek Ağırlıkları

Tiner inhalasyonuna maruz kalan deney grubuna ait sıçanlar ile tiner inhalasyonuna maruz kalmamış sıçan grupları arasındaki vücut ağırlığı bulguları karşılaştırıldığında; tiner inhale eden ratların, inhale etmeyen ratlara göre vücut ağırlıklarının anlamlı bir şekilde azaldığını saptandı ($p<0.05$).

4.2. Işık Mikroskopisi Gözlemleri

Tiner inhalasyonuna maruz kalmış deney grupları ile ve tiner inhalasyonuna maruz kalmayan deney grubu ratların nuc. accumbens dokusunun katmanlarının morfolojik açıdan değerlendirilmesi amacıyla Hematoksilen-Eozin (HE) ile boyandı. Hematoksilen-Eozin boyamasını ratların nuc. accumbens'deki piramidal hücreleri görmek için yapıldı.

Hematoksilen-Eozin boyamasında; kontrol grubu ve tiner almayan gruplarda nuc. accumbensdeki piramidal hücrelerin sayılarının normal olduğunu belirledik (kalitatif olarak değerlendirdik) (şekil 4.3.a). Tiner inhale eden grubun hücrelerinde sayısal bir azalma ile beraber morfolojik yapılarında da değişiklik meydana geldi (şekil 4.3.b). Grup 3 (Tiner + Cortistatin), Grup 4 (Tiner + Melatonin) ve Grup 5 (Tiner+ Melatonin + Cortistatin) karşılaştırıldığında hücrelerinde sayısal bir azalma ile beraber morfolojik yapılarında da değişiklik en az değişiklik sırasıyla Grup 5'de, sonra Grup 4'de daha sonra ise Grup 3'de idi (şekil 4.3.c, d, e).

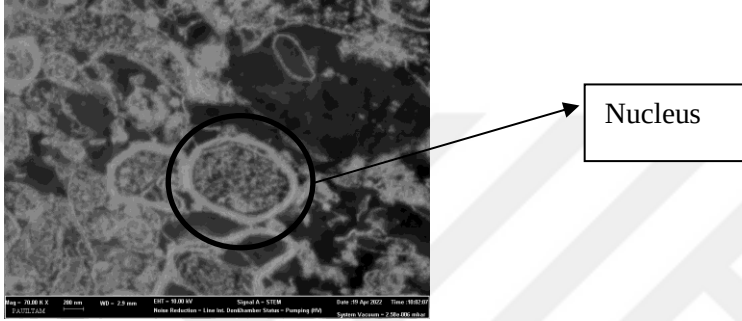


Şekil 4.3. Nuc. accumbens bölgesindeki piramidal hücrelerdeki Hematoksilen-Eozin boyaması. **a:** Grup 1 (Kontrol Grubu), **b:** Grup 2 (Tiner inhale edilen grup), **c:** Grup 3 (Tiner+Kortistatin), **d:** Grup 4 (Tiner+Melatonin), **e:** Grup 5 (Tiner+ Melatonin+Kortistatin) 10X20

4.3. Ultrastrüktürel Değerlendirme Bulguları

4.3.1. Kontrol Grubu

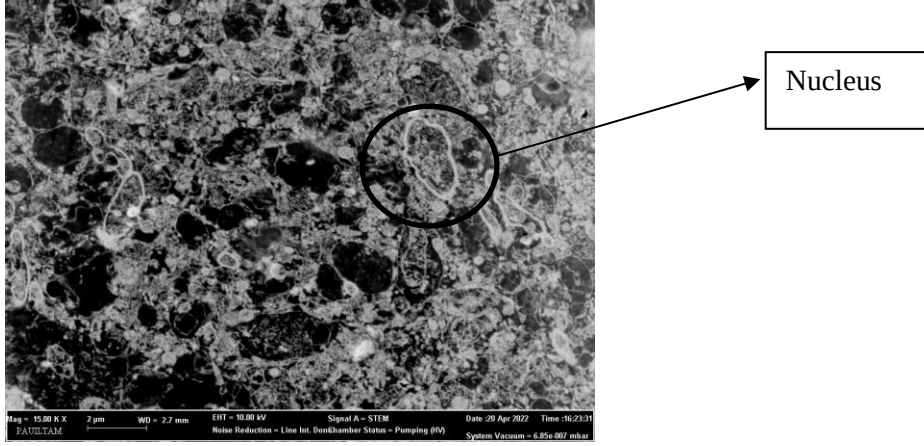
Kontrol grubunun yarı-ince kesitlerinde hücre tabakasında oval bir nukleus ile granuler kromatin görüldü. Sitoplazma yoğunluğu normal şekilde gözlenirken, bol miktarda mitokondri gözlemlendi. Endoplazmik retikulum ve ribozomlar normal yapıya sahipti (şekil 4.4)



Şekil 4.4. Nuc. accumbens bölgesinden-piramidal hücre Elektron mikroskopi bulguları Grup 1 (Kontrol Grubu) x 20.000

4.3.2. Tiner İnhalasyonu Alan Grup

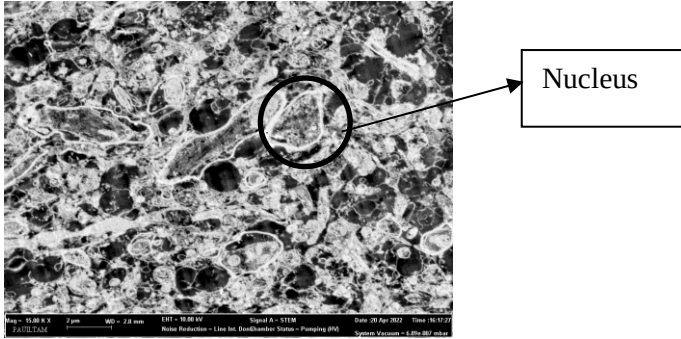
Tiner inhalasyonu alan grubun yarı-ince kesitlerindeki hücre tabakası kontrol grubu ile karşılaştırıldığında oval nukleusta kondansasyon görülürken sitoplazma yoğunluğunda azalma gözlemlendi. Hücre membranda bozulma, ribozom ve mitokondri sayılarında azalma gözlemlendi ve ER ise seçilemiyordu. Vakuolizasyona ve dens basılar hücrelere rastlandı (şekil 4.5)



Şekil 4.5. Nuc. accumbens bölgesinden-piramidal hücre Elektron mikroskopi bulguları Grup 2 (Tiner inhale edilen grup) x20.000

4.3.3. Kortistatin Uygulaması ve Tiner İnhalasyonu Alan Grup (Grup 3)

Tiner inhale ettirilen ve Kortistatin verilen grubun yarı-ince kesitlerindeki hücre tabakası kontrol grubu ile karşılaştırıldığında oval nukleusta kondansasyon görülürken sitoplazma yoğunluğunda azalma gözlemlendi. Vakuolleşme mevcuttu fakat organelleri seçiliyordu. Az miktarda da olsa mitokondri, ribozom ve endoplazmik retikulum gözlemlendi (şekil 4.6).

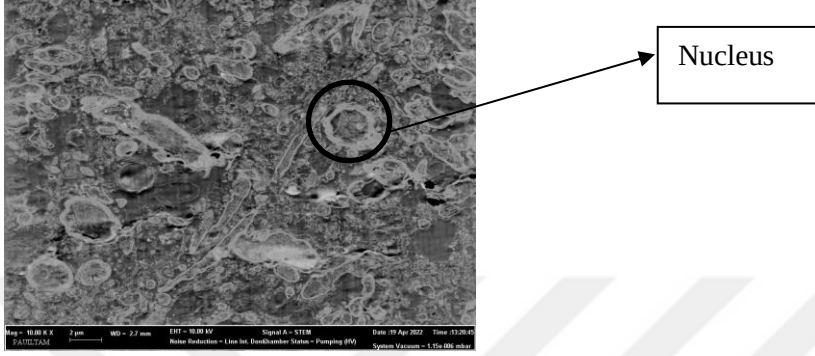


Şekil 4.6. Nuc. accumbens bölgesinden-piramidal hücre Elektron mikroskopi bulguları Grup 3 (Tiner+Kortistatin) x20.00

4.3.4. Melatonin Uygulaması ve Tiner İnhalasyonu Alan Grup (Grup 4)

Tiner inhale ettirilen ve melatonin verilen grubun yarı-ince kesitlerinde hücre tabakası kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, oval nukleusta biraz kondansasyon görülürken, sitoplazma yoğunluğunda az miktarda azalma gözlemlendi. Nükleer membranda hafif

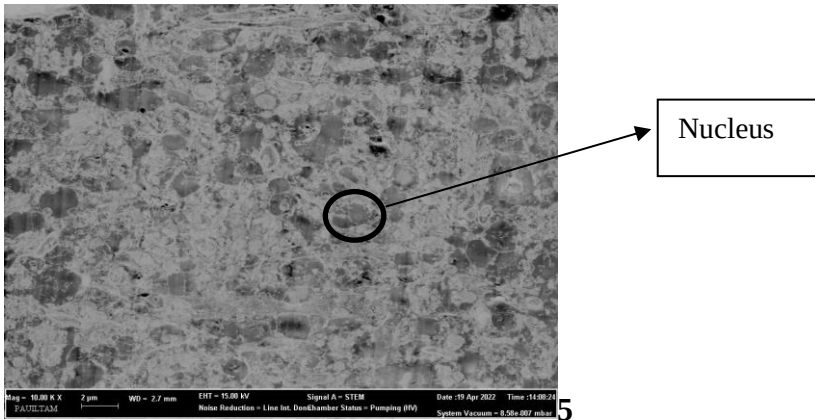
bozulma izlenirken, ribozom, mitokondri sayılarında pek bir azalma gözlenmedi ancak ER sayısında azalma ve yapısında bozulma gözlemlendi. Vakuolizasyona ve dens basılar hücrelere rastlandı (şekil 4.7).



Şekil 4.7. Nuc. accumbens bölgesinden-piramidal hücre Elektron mikroskopi bulguları Grup 4 (Tiner+Melatonin) x20.000

4.3.5. Melatonin, Kortistatin Uygulaması ve Tiner İnhalasyonu Alan Grup (Grup 5)

Tiner inhalasyonu alan ve melatonin ile Kortistatin verilen grubun yarı-ince kesitlerindeki hücre tabakası kontrol grubu ile karşılaştırıldığında oval nukleusta kondansasyon görülürken, sitoplazma yoğunluğunda bir miktar azalma tespit edildi. Nükleer membranda hafif bozulma, ribozom, mitokondri sayılarında azalma tespit edildi ve ER yapısı kontrol grubuna yakındı (şekil 4.8).



Şekil 4.8. Nuc. accumbens bölgesinden-piramidal hücre Elektron mikroskopi bulguları. Grup 5 (Tiner+Melatonin+Kortistatin) x20.000

4.4. Biyokimyasal Değerlendirmeler

4.4.1. Katalaz Enzim Aktivitesi

Nuc. accumbens dokusu katalaz enzim aktivite miktarı

Tablo 4.1’de çalışma gruplarına göre deneklerin katalaz/protein değerleri verilmiştir. Kontrol grubuna (Grup1) göre diğer çalışma gruplarının katalaz/protein değerleri karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü ($p>0,05$). Tüm çalışma gruplarının katalaz/protein değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark belirlenmedi ($p=0,499$).

Tablo 4.1. Gruplar arası deneklerin katalaz/protein değerleri

Grup	n	Katalaz/protein (k/mg protein)		p ¹	p ²
		OrtSS	Medyan(min-maks)		
1	7	0,78±0,34	0,75(0,33-1,29)	-	0,499
2	8	0,47±0,19	0,45(0,22-0,78)	0,121	
3	8	0,69±0,28	0,72(0,27-1,16)	0,613	
4	6	0,65±0,2	0,65(0,39-0,96)	0,445	
5	6	0,7±0,22	0,64(0,48-1,1)	0,628	
6	5	0,6±0,05	0,62(0,51-0,64)	0,268	
7	6	0,57±0,15	0,55(0,41-0,76)	0,295	
8	7	0,55±0,17	0,56(0,28-0,81)	0,209	
9	7	0,66±0,26	0,67(0,26-0,99)	0,456	

¹Grupların kontrol grubuna göre (Grup 1) Katalaz/protein değerleri Mann-Whitney U test ile karşılaştırılmıştır.

²Tüm grupların Katalaz/protein değerleri Kruskal-Wallis test ile karşılaştırılmıştır.

Tablo 4.2’te Grup 1, 2, 3, 4 ve 5’in katalaz/protein değerleri karşılaştırılmıştır. Buna göre, grupların katalaz/protein değerleri istatistiksel açıdan benzer bulundu ($p=0,297$).

Tablo 4.2. İlk 5 gruptaki deneklerin katalaz/protein değerleri

Grup	n	Katalaz/protein (k/mg protein)		p
		OrtSS	Medyan(min-maks)	
1	8	0,78±0,34	0,75(0,33-1,29)	0,297
2	8	0,47±0,19	0,45(0,22-0,78)	
3	8	0,69±0,28	0,72(0,27-1,16)	
4	6	0,65±0,2	0,65(0,39-0,96)	
5	7	0,7±0,22	0,64(0,48-1,1)	

Kruskal-Wallis test.

4.4.2. Glutasyon Peroksidaz Enzim Aktivite Tayini

Nuc. accumbens dokusu GPx enzim miktarı

Tablo 4.3'te çalışma gruplarına göre deneklerin GPx/protein değerleri verilmiştir. Kontrol grubuna (Grup1) göre diğer çalışma gruplarının GPx/protein değerleri karşılaştırıldığında, Grup 2'nin medyan GPx/protein değerinin (0,36 [min-maks: 0,14-0,81]) kontrol grubuna göre (0,56 [min-maks: 0,33-1,03]) anlamlı daha düşük olduğu saptandı ($p=0,046$). Tüm grupların GPx/protein değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ($p=0,390$).

Tablo 4.3. Gruplar arası doku GPx aktivitesi'nin değerlendirilmesi

Grup	n	GPx/protein (U/mg protein)		p ¹	p ²
		OrtSS	Medyan(min-maks)		
1	8	0,59±0,21	0,56(0,33-1,03)	-	0,390
2	8	0,37±0,22	0,36(0,14-0,81)	0,046	
3	6	0,57±0,26	0,5(0,29-1,06)	0,755	
4	7	0,51±0,22	0,42(0,28-0,9)	0,536	
5	5	0,54±0,13	0,62(0,36-0,65)	0,943	
6	6	0,46±0,13	0,47(0,27-0,62)	0,228	
7	6	0,60±0,14	0,64(0,36-0,76)	0,699	
8	7	0,47±0,16	0,42(0,23-0,67)	0,336	
9	8	0,54±0,22	0,55(0,28-1,01)	0,574	

¹Grupların kontrol grubuna göre (Grup 1) GPx/protein değerleri Mann-Whitney U test ile karşılaştırılmıştır.

²Tüm grupların GPx/protein değerleri Kruskal-Wallis test ile karşılaştırılmıştır.

Tablo 4.4'te Grup 1, 2, 3, 4 ve 5'in GPx/protein değerleri karşılaştırılmıştır. Buna göre, grupların GPx/protein değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark gözlenmedi ($p=0,277$)

Tablo 4.4. İlk 5 gruptaki deneklerin GPx/protein değerleri

Grup	n	GPx/protein (U/mg protein)		p
		OrtSS	Medyan(min-maks)	
1	8	0,59±0,21	0,56(0,33-1,03)	0,277
2	8	0,37±0,22	0,36(0,14-0,81)	
3	7	0,57±0,26	0,5(0,29-1,06)	
4	7	0,51±0,22	0,42(0,28-0,9)	
5	5	0,54±0,13	0,62(0,36-0,65)	

Kruskal-Wallis test.

4.4.3. Süperoksit Dismutaz Aktivite Tayini

Nuc. accumbens dokusu SOD enzim miktarı

Tablo 4.5’da çalışma gruplarına göre deneklerin SOD/protein değerleri sunulmuştur. Kontrol grubuna (Grup1) göre diğer çalışma gruplarının SOD/protein değerleri karşılaştırıldığında, Grup 2’nin ve Grup 3’ün medyan SOD/protein değerinin (1,93 [min-maks: 1,59-3,45] ve 2,82 [min-maks: 1,23-5,6]) kontrol grubuna göre (3,67 [min-maks: 2,86-4,68]) anlamlı daha düşük olduğu belirlendi ($p<0,001$ ve $p=0,028$). Tüm grupların SOD/protein değerleri karşılaştırıldığında, Grup 2’nin SOD/protein değerlerinin Grup 1 ve Grup 4’e göre anlamlı daha düşük olduğu saptandı ($p=0,014$).

Tablo 4.5. Gruplar arası doku SOD aktivitesi’nin değerlendirilmesi

Grup	n	SOD/protein (U/mg protein)		p ¹	p ²	Anlamlı fark
		OrtSS	Medyan(min-maks)			
1	8	3,81±0,6	3,67(2,86-4,68)	-	0,014	1-2, 2-4
2	10	2,33±0,81	1,93(1,59-3,45)	<0,001		
3	8	2,96±1,24	2,82(1,23-5,6)	0,028		
4	7	3,59±0,43	3,75(2,81-4,07)	0,694		
5	7	3,67±1	3,32(2,9-5,8)	0,463		
6	5	3,02±0,82	2,84(2,2-3,92)	0,171		
7	6	3,31±1,62	2,76(2,2-6,41)	0,081		
8	7	3,24±1,08	3,01(2,31-5,56)	0,054		
9	6	3,22±0,49	3,38(2,42-3,67)	0,142		

¹Grupların kontrol grubuna göre (Grup 1) SOD/protein değerleri Mann-Whitney U test ile karşılaştırılmıştır.

²Tüm grupların SOD/protein değerleri Kruskal-Wallis test ile karşılaştırılmış ve post hoc karşılaştırmalarda Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır.

Tablo 4.6’de Grup 1, 2, 3, 4 ve 5’in SOD/protein değerleri karşılaştırılmıştır. Buna göre, Grup 2’nin SOD/protein değerlerinin Grup 1 ve Grup 4’e göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu belirlendi ($p=0,003$).

Tablo 4.6. İlk 5 gruptaki deneklerin SOD/protein değerleri

Grup	n	SOD/protein (U/mg protein)		p	Anlamlı fark
		OrtSS	Medyan(min-maks)		
1	8	3,81±0,6	3,67(2,86-4,68)	0,003	1-2, 2-4
2	10	2,33±0,81	1,93(1,59-3,45)		
3	8	2,96±1,24	2,82(1,23-5,6)		
4	7	3,59±0,43	3,75(2,81-4,07)		
5	7	3,67±1	3,32(2,9-5,8)		

Kruskal-Wallis test.

4.4.4. Lipid Peroksidasyon Seviyeleri

Nuc. accumbens dokusu TBARS değerlendirilmesi

Tablo 4.7’de çalışma gruplarına göre deneklerin MDA/protein değerleri sunulmuştur. Kontrol grubuna (Grup1) göre diğer çalışma gruplarının MDA/protein değerleri karşılaştırıldığında, Grup 2’nin medyan MDA/protein değerinin (3,59 [min-maks: 2,14-5,4]) kontrol grubuna göre (2,38 [min-maks: 1,84-3,7]) anlamlı daha yüksek olduğu belirlendi ($p=0,042$). Tüm grupların MDA/protein değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($p=0,127$).

Tablo 4.7. Gruplar arası doku TBARS düzeyleri değerlendirilmesi

Grup	n	MDA/protein (nmol/mg protein)		p ¹	p ²
		OrtSS	Medyan(min-maks)		
1	7	2,45±0,63	2,38(1,84-3,7)	-	0,127
2	9	3,64±1,18	3,59(2,14-5,4)	0,042	
3	5	2,34±0,81	2,34(1,28-3,54)	0,755	
4	6	3,21±1,07	3,34(1,59-4,56)	0,181	
5	6	2,96±0,82	2,76(1,99-4,39)	0,138	
6	7	3,25±1,42	2,94(1,45-5,96)	0,165	
7	6	2,13±0,66	2,12(1,41-2,81)	0,731	
8	6	3,25±0,87	3,21(2,05-4,24)	0,073	
9	8	3,01±1,33	3,12(1,58-5,22)	0,694	

¹Grupların kontrol grubuna göre (Grup 1) MDA/protein değerleri Mann-Whitney U test ile karşılaştırılmıştır.

²Tüm grupların MDA/protein değerleri Kruskal-Wallis test ile karşılaştırılmıştır.

Tablo 4.8’da Grup 1, 2, 3, 4 ve 5’in MDA/protein değerleri karşılaştırılmıştır. En yüksek medyan MDA/protein değeri Grup 2’de ve daha sonra Grup 4’te belirlenirken bu fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı (p=0,083).

Tablo 4.8. İlk 5 gruptaki deneklerin MDA/protein değerleri

Grup	n	MDA/protein (nmol/mg protein)		p
		OrtSS	Medyan(min-maks)	
1	7	2,45±0,63	2,38(1,84-3,7)	0,083
2	9	3,64±1,18	3,59(2,14-5,4)	
3	5	2,34±0,81	2,34(1,28-3,54)	
4	6	3,21±1,07	3,34(1,59-4,56)	
5	6	2,96±0,82	2,76(1,99-4,39)	

Kruskal-Wallis test.

TARTIŞMA

Uçucu maddelerden olan tiner Toluen adı verilen bir kimyasal madde içerir (Feychting M. ve ark. 2000). Yapılan literatür taramasında tiner bağımlısı rat modelinde araştırmacılar tinerin yanında sadece tolüende vermişlerdir.

Literatürde, değişen konsantrasyonlarda ve değişen periyotlarda tiner inhalasyonu uygulamaları rapor edilmiştir. Fifel ve ark., 2014; 300-350 gr farelere 45 gün boyunca tiner konsantrasyonu (gaz kromatografisi metodu ile) 0, 300, 400 ve 600 ppm olacak şekilde, Martinez-Alfaro ve ark., 2014; 300-350 gr ağırlığındaki ratlara 8 hafta boyunca 4000 ppm toluen konsantrasyonu olacak şekilde ve Apawu ve ark., 2015; 4 hafta boyunca ratlara toluen konsantrasyonu 0, 2000 ve 4000 ppm olacak şekilde inhale ettirmişlerdir.

Biz de çalışmamızda ağırlığı 400-450 gr olan ratlara 6 hafta süresince, günde 2 kez sabah 09:00 ve akşam 16:00 saatlerinde, haftada 7 gün boyunca; toluen, 1800 ppm, aseton 500 ppm, isobutil asetat 7000 ppm ve isobutanol 6000 ppm olacak şekilde selülozik tiner uyguladık.

Alfaro ve ark., 2013; Fiel ve ark., 2014; Aaron ve ark., 2015; tiner inhalasyonu sonucunda ilk gözlenen klinik bulgular olarak, tüylerin sararması, aşırı yalanma, sekresyon artışı, kafeste bir köşede kümeleşme, dispne (nefes almada zorluk) ve sık göz kırpmasını belirtmişlerdir.

Biz de çalışmamızda literatürde yer alan bu klinik bulgularla uyumlu klinik bulgular gözlemledik.

Alfaro ve ark., 2013; Fiel ve ark., 2014; Aaron ve ark., 2015; yaptıkları çalışmalarında tiner inhalasyonu esnasında tiner uygulamasını alan deneklerin vücut ağırlıklarında anlamlı ölçüde azalma meydana geldiğini gözlemlemiştir; biz de vücut ağırlıkları ile ilgili bulgularımızın literatür ile uyumlu olduğunu saptadık.

Yaptığımız literatür taramasında nuc. accumbens ile ilgili tiner inhalasyonu çalışmasına rastlamadık. Çalışmamızın sonucunda elde ettiğimiz bulguları diğer beyin

bölgesinde yapılan tiner inhalasyonu çalışmalarının sonuçları ile karşılaştırdık. Araştırmamızın biyokimyasal ve mikroanatomik sonuçlarını farklı beyin bölgesindeki çalışmalarla tartıştık. Ultrastrüktürel değerlendirmede nuc. accumbens bölgesinden alınan piramidal hücrelerde kontrol grubunda oval yapıda bir nucleus görüldüğü tiner alan grupta ise nucleus'un oval yapısının bütünlüğünün bozulduğunu gözlemledik. Kalitatif olarak gözlem yaptığımız bu değerlendirmede melatonin+tiner, kortistatin +tiner ve kombine grup olan melatonin+kortistatin+tiner alan grupların oval nucleus yapısının bütünlüğünün tek başına tiner alan gruba göre bozulmadığını saptadık. Hücresel düzeyde tiner alan hücrelerde dejenerasyon oluştuğunu ve antioksidan madde verdiğimiz gruplarda ise oluşan hasara karşı önleyici etkinin en çok kombine grup olan melatonin+kortistatin +tiner alan grup (Grup 5)'te saptadık. Carabez ve ark., 1998; yaptıkları çalışmalarında akut ve kronik boya tinerine maruz kalan rat cerebellumlarının TEM incelemesinde; ultrastrüktürel olarak; purkinje hücre mitokondrisi, nörofilament ve nörotübül sayısında ve plasma membranının kalınlığında azalma olduğunu rapor etmiştir.

Çalışmamızdaki ışık mikroskopi bulgularında yaptığımız kalitatif analizde sadece tiner alan grubun (Grup 2)'nin piramidal hücrelerinin hipoksik karakterde hücrelere ve orta-şiddetli olarak dejenerasyonun varlığını saptadık. Antioksidan madde olarak verdiğimiz gruplarda ise oluşan hasara karşı önleyici etkisinin en çok kombine grup olan melatonin+kortistatin +tiner alan grup'da (Grup 5) olduğunu gördük. Bu grupta kalitatif analiz ile piramidal hücrelerdeki hasarı hafif-orta olarak nitelendirdik. Gotohda ve ark. 2002;'de toluene inhalasyonu alan rat cerebellumunda ışık mikroskobisi çalışmasına göre; gyrus dentatus'taki granül hücre miktarında belirgin azalma olduğunu rapor etmişlerdir. Biz yaptığımız çalışmada nuc. accumbens'deki piramidal hücre sayısında azalma olduğunu gözlemledik ve bu hasarı hafif-orta, orta-şiddetli olarak nitelendirdik.

Baydas ve ark., 2004; tinere maruz bırakılan sıçanlarda hippocampus, cortex ve cerebellumda lipid peroksidaz seviyeleri üzerine çalışma yapmışlardır. Çalışmalarında hippocampus, cortex ve cerebellumda lipid peroksidaz seviyelerinde önemli derecede azalma olduğunu belirtmişlerdir. Bizim yaptığımız kontrol grubuna (Grup1) göre diğer çalışma gruplarının MDA/protein değerleri karşılaştırıldığında, Grup 2'nin medyan

MDA/protein değerinin (3,59 [min-maks: 2,14-5,4]) kontrol grubuna göre (2,38 [min-maks: 1,84-3,7]) anlamlı ve daha yüksek olduğunu belirledik ($p=0,042$). Tüm grupların MDA/protein değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık gözlemledik ve çalışmamızda kontrol grubun (Grup 1) TBARS düzeylerinin, tiner alan ve tiner ve kortistatin alan gruba göre (Grup 2 ve 3) daha düşük olduğunu biyokimyasal olarak saptadık. Grup 1, 2, 3, 4 ve 5'in MDA/protein değerlerini karşılaştırdık. En yüksek medyan MDA/protein değeri Grup 2'de ve daha sonra Grup 4'te belirlenirken bu farkı istatistiksel açıdan anlamlı bulmadık ($p=0,083$).

Martinez-Alfaro ve ark., 2006; uzun süreli tiner inhasyonuna maruz bırakılmış ratların beyinleri ve karaciğerlerinde MDA ve glutatyon peroksidaz düzeyleri üzerine yapmış oldukları çalışmaya göre; tiner inhalasyonu sonrası rat beyni ve karaciğerinde MDA düzeyinde artma, glutatyon peroksidaz seviyesinde ise azalma saptamışlardır. Çalışmamızın sonuçları literatür sonuçları ile uyumlu olduğunu bulduk. Mikroanatomik değerlendirme olan ışık mikroskobi ve ultrastruktural çalışmalarla biyokimyasal sonuçlarımızı karşılaştırdığımızda birbirleriyle uyumlu olduğunu saptadık. Işık mikroskobi görüntülerinde en çok hasar alan grubun sadece tiner alan grubun (Grup 2) olduğunu ve hipoksik karakterde hücreler olduğunu gözlemledik. Ultrastruktural görüntüleme analizinde nucleus accumbens bölgesinden alınan kesitteki piramidal hücrelerin kontrol grubunda oval nucleus yapılı hücreler olduğunu gözlemledik. Sadece tiner alan grupta bu hücrenin şiddetli bir şekilde hasara uğradığını, oval nucleus yapısının bozularak bu bütünlüğün sağlanmadığını gözlemledik. Biyokimyasal sonuçlarda sadece tek başına tiner inhalasyonu alan grubun (Grup 2) nin lipid peroksidasyon değerlerinin diğer gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek çıktığını istatistiksel olarak analiz ettik. Bu da biyokimyasal ve histolojik düzeyde yapılan gözlemlerde en çok hasarın tek başına tiner alan grupta olduğunu gösterdi.

Literatür taramasında ratlara yapılan tiner inhalasyonu sonrası melatonin ve kortistatin uygulaması çalışmalarında nuc. accumbens'de biyokimyasal parametrelerden; CAT, SOD, MDA ve GSH-x değerlerinin analizi hakkında bir veriye rastlamadık.

Kontrol grubuna (Grup1) göre diğer çalışma gruplarının katalaz/protein değerleri karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı gördük ($p>0,05$). Tüm

Çalışma gruplarının katalaz/protein değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptamadık ($p=0,499$). GPx/protein değerleri karşılaştırıldığında; Grup 2'nin medyan GPx/protein değerinin (0,36 [min-maks: 0,14-0,81]) kontrol grubuna (Grup1) göre (0,56 [min-maks: 0,33-1,03]) anlamlı derecede düşük olduğu saptadık ($p=0,046$). Kontrol grubundaki antioksidan enzim sisteminden glutasyon peroksidasyonun hücresel düzeyde en çok hasarı olan grupta istatistiksel olarak daha düşük olduğunu mikroskopik bulgulardan tem ve ışık mikroskobu görüntülerinde de saptadık. Tüm grupların GPx/protein değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık tespit etmedik ($p=0,390$). Kontrol grubuna (Grup1) göre diğer çalışma gruplarının SOD/protein değerleri karşılaştırıldığında, Grup 2'nin ve Grup 3'n medyan SOD/protein değerinin (1,93 [min-maks: 1,59-3,45] ve 2,82 [min-maks: 1,23-5,6]) kontrol grubuna göre (3,67 [min-maks: 2,86-4,68]) anlamlı daha düşük olduğu belirlidik ($p<0,001$ ve $p=0,028$). Tüm grupların SOD/protein değerleri karşılaştırıldığında, Grup 2'nin SOD/protein değerlerinin Grup 1 ve Grup 4'e göre anlamlı ve daha düşük olduğunu saptadık ($p=0,014$). Antioksidan enzim sistemlerinden olan süperoksit dismutaz değerlerinin en çok hücre hasarı olan grupta yani tek başına tiner inhalasyonu alan grupta olduğunu gördük. İstatistiksel olarak i melatonin+tiner alan grubun (Grup 4)'n SOD aktivitesinin sadece tiner alan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı çıktığını bulduk. Bu sonuç bize melatoninin antioksidan etki olarak aktivite gösterdiğini istatistiksel olarak ortaya çıkardı. Işık mikroskobu görüntülemede de melatonin+tiner alan gruptaki piramidal hücrelerin hafif-orta hasar olarak karakterize olduğunu kalitatif analiz ile gözlemledik. Elektron mikroskobu çalışmalarında ise oval nucleus yapısının bozulmadığını hücrede hafif şiddette bozulma meydana geldiğini gözlemledik.

Yapılan literatür taramasında kortistatinin ilgili bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Tsai Chiu ve ark. alışmalarında bakteriyel meningoensefalitte kortistatinin antibiyotiklere bir adjuvan olarak potansiyel kullanımını önermişlerdir (Tsai Chiu ve ark., 2011).

Braun ve ark. alışmalarında kortistatinin sıçanlarda antikonvülsif ve nöroprotektif etkiler gösterdiğini göstermişlerdir (Barun ve ark., 1998).

Liang ve ark. alışmalarında kortistatinin nöral kök hücre proliferasyonunu uyardığını göstermişlerdir. (Liang ve ark. 2020).

Çalışmamızda, tiner alan grupların GPx, SOD, CAT antioksidan enzim tayini değerdendirmesinde bu ezimlerin düzeylerinin az olduğunu, TBARS düzeylerinin ise yüksek olduğunu saptadık. Yüksek olmasını ortamda serbest radikallerin varolmasına, serbest radikal oluşumunun da tinerin nörotoksisitesine bağılı geliştiğini düşünöyoruz.



SONUÇ ve ÖNERİLER

1. Deney gruplarına ait gözlemler ile kontrol grupları kıyaslandığında; sık göz kırpmaya, aşırı yalanma, kesik nefes alma, aksırmanın sıklaşması, araştırma kafesinde köşelere kaçıp kümeleşmeler yapma, ağızdan salya akma şeklinde klinik bulgular saptandı.
2. Tiner inhalasyonuna ve melatonin ve kortistatin uygulamasına bağlı olarak nuc. accumbens dokusundaki katmanlarındaki değişiklikler rapor edilmiştir. Grup 2'nin katmanlarındaki azalmanın en çok olduğu, Grup 5'deki azalmanın Grup 2, Grup 3 ve Grup 4'e göre daha az olduğu görülmüştür. Çalışmamızda histolojik olarak; Grup 2'nin nuc. accumbens dokusunun katmanlarında gözle görülür bir azalma rapor edilmiş, Grup 5'in katmanlarındaki azalmanın Grup 3 ve Grup 4'e göre daha az olduğu gözlenmiştir. Grup 5'in kontrol grubu ile eşdeğer olduğu gözlemlendi. Melatonin ve kortistatinin koruyucu etkisi olduğunu düşünüyoruz.
3. Ultrastrüktürel bulgulara göre; tiner inhalasyonu ve melatonin ve kortistatinin uygulamasına bağlı olarak nuc. accumbens dokusundaki hücrelerin sitoplazmik yoğunluğu, nükleus durumu, vakuolleşme, ribozom, mitokondri ve endoplazmik retikulumdaki farklar incelenmiştir. Ultrastrüktürel yapıda Grup 2'nin nuc. accumbens hücrelerindeki nükleuslarda dejenerasyon, sitoplazmik yoğunlukta azalma, mitokondri ve ribozom sayılarında azalma, vakuolleşme ve daha çok yoğun baziller hücreler diğer gruplara göre daha fazla görülürken, Grup 5'de Grup 3 ve Grup 4'e göre daha az nükleus dejenerasyonu, mitokondri ve ribozom sayılarının daha fazla olduğu ve daha az vakuolleşme tespit edilmiştir.
4. Biyokimyasal analizlere göre; tiner inhalasyonu ve melatonin ve kortistatin uygulamasına bağlı olarak nuc. accumbens dokusundaki katalaz, glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz, lipid peroksidasyon seviyesindeki değişiklikler rapor edilmiştir. Grup 2'nin glutatyon peroksidaz aktivite değerleri Grup 1,4 ve 5'e göre daha yüksekti. Grup 2'nin süperoksit dismutaz aktivite değerleri grup 1, 4 ve 5'e göre daha yüksekti. Grup 3'ün süperoksit dismutaz aktivite değerleri grup 5'e göre daha yüksekti. Grup 1'in TBARS düzeyleri Grup 2 ve 3'e göre daha düşüktü.

5. Tiner inhalasyonu alan kişilerde Melatonin ve kortistatin kullanımının hücresel düzeyde hasarı azaltıcı ve önleyici etkilerinin olduğu dolayısıyla tinerle çalışan kişilerde bu uygulamalarının alternatif bir tedavi yöntemi olarak kullanılabileceğini düşünüyoruz.



KAYNAKLAR

- Acuna-Castroviejo D, Escames G, Macias M, Munoz HA, Molina CA, Arauzo M, Montes R. Cell protective role of melatonin in the brain. *J Pineal Res* 1995 Sep 19:257-63.
- Ahmet Ilgazli, Canan Sengul, Hale Maral, Meltem Ozden, Cengiz Ercin The effects of thinner inhalation on superoxide dismutase activities, malondialdehyde and glutathione levels in rat lungs 7 January 2004 *Clinica Chimica Acta* 343 (2004) 141–144
- Allen R, Kidd H, Lyons G, Templer S, Hannat M. Solvents. In: Walsh D, Editör. *Chemical Safety Data Sheets*. Athenaeum Press, Newcastle-UK, 1992;1- 4,1990-5, 303-5
- Annagür BB, Savaş HA. Depresyonda ekhastalık, ekhastalık olarak depresyon: Türkiye’de yapılmış çalışmaların gözden geçirilmesi. *Journal of Mood Disorders* 2011; 1:87-94.
- Arendt J, Aldhous M. Synchronisation of a Disturbed Sleep-wake Cycle in a Blind Man by Melatonin Treatment. *Lancet* 1988; 2: 772-3.
- Arendt J. *Melatonin and the Mammalian Pineal Gland*. London, Chapman&Hall, 1995.
- Arendt J. Melatonin. *Clin Endocrinol* 1988; 29: 205- 229.
- Attanasio A, Borelli P, Gupta D. Circadian Rhythms in Serum Melatonin from Infancy to Adolescence. *J Clin Endocrinol & Metab*. 1985; 61(2): 388-90.
- Aytekin Y, Gürsoy E. *Renkli Embriyoloji Atlası*. İstanbul: Nobel Tıp Kitapları Ltd. Şti 2000. (Drews U: *Color Atlas of Embryology*. Stuttgart, Theime; 1993.
- Barroso-Moguel R, Hernandez JV. Experimental neuropaty produced in rats with industrial solvents (thinner). *Archiv Invest Med (Mex)*, 1989;20:53-60

Bartsch C, Bartsch H, Fluchter StH, Lippert TH. Depleted pineal melatonin production in primary breast and prostate cancer is connected with circadian disturbances; possible role of melatonin for synchronization of circadian rhythmicity 1996.

Başaklar AC. Langman's Medikal Embryoloji. Ankara: Palme Yayıncılık 1996. (Sadler TW. Langman's Medical Embryology. Baltimore: Williams & Wilkins 1995.)

Baydas G, Reiter RJ, Nedzvetskii VS, Yaşar A, Tuzcu M, Ozveren F, Canatan H. Melatonin protects the central nervous system of rats against toluene-containing thinner intoxication by reducing reactive gliosis 2000.

Bayram Yilmaz , Sinan Canpolat , Suleyman Sandal , Nusret Akpolat , Selim Kutlu , Necip Ilhan , Haluk Kelestimur Reproductive Toxicology 22 (2006) 791–796

Berga SL, Mortola JF, Yen SS. Amplification of Nocturnal Melatonin Secretion in Women with Functional Hypothalamic Amenorrhea. J Clin Endocrinol & Metab. 1988; 66(1): 242-4.

Bettahi I, Guerrero JM, Reiter RJ, Osuna C. Physiological concentrations of melatonin inhibit the norepinephrine-induced activation of prostaglandin E2 and cyclic AMP production in rat hypothalamus: a mechanism involving inhibition of nitric oxide synthase. J Pineal Res. 1998, 25:34-40.

Beyer CE, Steketee JD, Saphier D. Antioxidant properties of melatonin-an emerging mystery. Biochem Pharmacol 1998, 56: 1265-1272.

Blazejova K, Illnerova H, Hajek I, Nevsimalova S. Circadian rhythm in salivary melatonin in narcoleptic patients: Neurosci Lett 2008; 437:162-164

Bruce DA, Schut L, Sutton LN, Pineal region tumors. In: McLaurin RL, Venes J, Schut L, Epstein F (Eds). Pediatric Neurosurgery. Surgery of the Developing Nervous System. Philadelphia: WB Saunders 1989; 409

Brzezinski A, Wurtman RJ. The Pineal Gland: Its Possible Roles in Human Reproduction. Obstet Gynecol Survey 1988; 43: 197-207.

Cagnacci A, Elliot JA, Yen SS. Amplification of Pulsatile LH Secretion by Exogenous Melatonin in Women. *J Clin Endocrinol & Metab.* 1991; 73(1): 210- 2

Cagnacci A. Melatonin in relation to physiology in adult humans. *J Pineal Res* 1996; 21:200-213.

Caldemeyer KS, Pascuzzi RM, Moran CC, Smith RR. Toluene abuse causing reduced MR signal intensity in the brain. *AJR Am J Roentgenol* 1993; 161(6): 1259-61.

Çam A, Erdoğan MF. Melatonin. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası* 2003; 56:103-112.

Carabez A, Sandavol F, Palma L, Ultrastructural changes of tissues produced by inhalation of thinner in rats. *Microsc Res Tech* 1998;40:56-62

Cardinali DP, Glombek DA, Resenstein RE, Cutrera RA, Esquifino AI. Melatonin site and mechanisms of action : Single or multiple. *J Pineal Res* 1997;23:32-39.

Cavallo A, Richards GE, Smith ER. Relation Between Nocturnal Melatonin Profile and Hormonal Markers of Puberty in Humans. *Horm Res.* 1992; 37: 185-9

Cavallo A, Ristchel WA. Pharmacokinetics of Melatonin in Human Sexual Maturation. *J Clin Endocrinol & Metab.* 1996; 81(5): 1221-5.

Challet E. Mini review: Entrainment of the suprachiasmatic clockwork in diurnal and nocturnal mammals. *Endocrinology* 2007; 148:5648-5655.

Chen, H. and Tappel, A.L. 1996. Protection of multiple antioxidants against heme protein oxidation and lipid peroxidation induced by CBrCl₃ in liver, lung, kidney, heart, and spleen. *J. Agric. Food Chem.* 44(3); 854-858.

Chien-Tsai Chiu , Li-Li Wen, Hsin-Ping Pao, Jia-Yi Wang Cortistatin is induced in brain tissue and exerts neuroprotection in a rat model of bacterial meningoencephalitis *J Infect Dis.* 2011 Nov 15;204(10):1563-72. doi: 10.1093/infdis/jir608. Epub 2011 Sep 21.

Claustrat B, Brun J, Chazot G. The basic physiology and pathophysiology of melatonin. *Sleep Med Rev* 2005; 9:11-24

Coleman MP, Reiter RJ. Breast cancer, blindness and melatonin. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1992; 28:501-503.

Conn PM. Neurobiology of drugs of abuse. In: Conn's Translational Neuroscience. 1st ed. Academic Press; 2017. p. 715–22.

Cos S, Gonzalez A, Martinez-Campa C, Mediavilla MD, Alonso-Gonzalez C, Sanchez Barcelo EJ. Melatonin as a selective estrogen enzyme modulator. *Curr Cancer Drug Targets* 2008; 8:691-702.

Dahlitz M, Alvarez B, Vignau J ve ark. Delayed Sleep Phase Syndrome Response to Melatonin. *Lancet* 1991; 1: 1121-4.

de Lecea L, Criado JR, Prospero-Garcia O, Gautvik KM, Schweitzer P, Danielson PE. et al. A cortical neuropeptide with neuronal depressant and sleep-modulating properties. *Nature*. 1996;381:242–5.

Deveci S, Yazıcı C, Köse K, Gökalp S.S. Siklosporin A ve/veya melatonin uygulanan ratlarda kanser riskini artıran oksidatif stresin değerlendirilmesi. *Klinik Biyokimya ve Kanser Sempozyumu Özet Kitabı*, Bursa 26-29 Eylül 2002, P-21.

Doğuer S, Erençin Z. Evcil Kuşların Komparativ Anatomisi (Handbuch der Vergleichenden Anatomie der Haustiere, Baum EV, Ed.'dan çeviri). Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi 1964.

Dullo P, Chaudhary R. Short review of reproductive physiology of melatonin. *Pak J Physiol* 2009; 5:46-48.

Duran-Prado M, Morell M, Delgado-Maroto V, Castano JP, Aneiros-Fernandez J, de Lecea L. et al. Cortistatin inhibits migration and proliferation of human vascular smooth muscle cells and decreases neointimal formation on carotid artery ligation. *Circ Res*. 2013;112:1444–55.

Duthie, G.G., Wahle, K.W.J. and James, W.P.T. 1989. Oxidants, antioxidants and cardiovascular disease. *Nutr. Res. Rev.* 2; 51-62.

Ellenharn MJ, Barcelaux DG. *Medical Toxicology*. p 940-61. Elsevier Science Publishing Company. Amsterdam, 1988

Fawcett DW, Jenesh RP. Pineal gland. In: Bloom M, Fawcett DW (Eds). *Concise Histology*. New York, Chapman & Hall International Thomson Publishing 1977; 164

Feychting M, Osterlund B, Ahlbom A. Reduced cancer incidence among the blind. *Epidemiology* 1998; 9:490-494.

Flanagan RJ, Ruprah M, Meredith TJ, Ramsey JD. An introduction to the clinical toxicology of volatile substances. *Drug Saf* 1990;5(5):359-83.

Flanagan RJ; Ruprah M, Meredith TJ, Ramsey JD. An introduction to the clinical toxicology of volatile substances. *Drug Saf* 1990;5(5):359-83

Folkard S, Arendt J, Clark M: Can Melatonin Improve Shiftworkers Tolerances of the Night Shift? Some Preliminary Findings. *Chronobiol Int*.

Foot, C.S. 1985. Chemistry of reactive oxygen species. In “ Chemical Changes in Food During Processing”, T. Richardson and J.W. Finley (Eds), pp:17-32. Van Nostrand Reinhold Company, New York.

Giusti P, Lipartiti M, Franceschini D, Schiavo N, Floreani M, Manev H. Neuroprotection by melatonin from kainate-induced excitotoxicity in rats. *FASEB J* 1996, 10: 891-896.

Görpe A: *Klinik Endokrinoloji*. İstanbul: İstanbul Matbaası 1964.

Gotohda T, Tokunaga I, Kubo S, Kitamura O, Ishigami A. Toluene inhalation induces glial cell line-derived neurotrophic factor, transforming growth factor and tumor necrosis factor in rat cerebellum.

Gruber HE, Hoelscher GL, Bethea SF, Menscher EA, Ingram JA, Templin MA. et al. Cortistatin is endogenous to the human intervertebral disc and exerts in vitro mitogenic effects on annulus cells and a downregulatory effect on TNF-alpha expression. *Spine J.* 2014;14:2995–3001.

Guerrero JM, Reiter RJ, Ortiz GG, Pablos MI, Sewerynek E, Chuang JI. Melatonin prevents increases in neural nitric oxide and cyclic GMP production after transient brain ischemia and reperfusion in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). *J Pineal Res.* 1997, 23:24-31.

Gummin DD, Hryhorczuk DO. Hydrocarbons. In: Flomenbaum NE, Goldfrank LR, Hoffman RS, Howland MA, Lewin NA, Nelson LS eds. *Goldfrank's Toxicologic*

Halliwell B., Gutteridge M. C. (1984). Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochemical Journal*, 219, 1-14.

Hara M, Yoshida M, Nishijima H, et al. Melatonin, a pineal secretory product with antioxidant properties, protects against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *J Pineal Res* 2001, 30: 129-138.

Hardeland R, Reiter RJ, Poeggeler B, Tan D-X. The significance of the metabolism of the neurohormone melatonin: Antioxidative protection and formation of bioactive substances. *Neurosci Biobehav Rev* 1993, 17: 347-357.

Herxheimer A, Petrie KJ. Melatonin for preventing and treating jet lag. *Cochrane Database Syst Rev.* 2001; 1:CD001520.

Hogendorf P, Adamczyk E, Okraszewska E, Microvascularisation of the pineal gland in the rat. *Folia Morphol (Warsz)* 2001; 60: 191.

Holger Braun, Stefan Schulz, Axel Becker, Helmut Schröder, Volker Höllt Protective effects of cortistatin (CST-14) against kainate-induced neurotoxicity in rat brain *Brain Research* Volume 803, Issues 1–2, 24 August 1998, Pages 54-60.

Ianas O, Olivescu R, Badescu I. Melatonin involvement in oxidative processes. *Rom J Endocrinol* 1991, 29:117-123.

Juan Liang, Ying Bai, Wenjia Chen, Yu Fu, Yue Liu, and Xinhua Yin Cortistatin, a novel cardiovascular protective peptide *Cardiovasc Diagn Ther.* 2019 Aug; 9(4): 394–399. doi: 10.21037/cdt.2018.12.08.

Kalaycıoğlu L, Serpek B, Nizamlıoğlu M, Başpınar N, Tiftik M, A., *Biyokimya*. 3. Baskı, Ekim 2006, Nobel Yayın Dağıtım s: 300,301,302

Kalaycıoğlu L, Serpek B, Nizamlıoğlu M, Başpınar N, Tiftik M, A., *Biyokimya*. 3. Baskı, Ekim 2006, Nobel Yayın Dağıtım s: 277,278,279,280

Karasket M, Fraschini F. Is there a role for pineal gland in neoplastic growth? In *Role of Melatonin and Pineal Peptides in Neuroimmunomodulation* (Eds F Fraschini, RJ Reiter):243-251. New York, Plenum, 1991.

Khaleghipour S, Masjedi M, Ahade H, Enayate M, Pasha G, Nadery F et al. Morning and nocturnal serum melatonin rhythm levels in patients with major depressive disorder: an analytical cross-sectional study. *Sao Paulo Med J* 2012; 130:167-172

Köse K, Yazıcı C. Levonorgestrel ve melatonin uygulamasının rat karaciğer glutatyon redoks siklusu üzerine etkisi. XVIII. Gevher Nesibe Tıp Günleri, III. Deneysel ve Klinik Araştırma Kongresi ve "Workshop"u Özet Kitabı, Kayseri 18-20 Mayıs 2000, P 28.

Kotler M, Rodriguez C, Sainz RM, Antolin I, Menendez-Pelaez A. Melatonin increases gene expression for antioxidant enzymes in rat brain cortex. *J Pineal Res* 1998, 24: 83- 89.

Lam RW, Bercowitz AL, Berga SL, Clark CM, Kripke DP, Gillin JC. Melatonin suppression in bipolar and unipolar mood disorders. *Psychiatry Res* 1990; 33:129-134.

Lane AE, Moss HB. Pharmacokinetics of melatonin in man: First pass hepatic metabolism. *J Clin Endocrinol & Metab.* 1985; 61: 1214-6.

Lavelli, V., Peri, C. and Rizzola, A. 2000. Antioxidant activity of tomato products as studied by model reactions using Xanthine oxidase, Myeloperoxidase, and copper-induced lipid peroxidation. *J. Agric. Food Chem.* 48(5); 1442-1448.

LeBel CP, Schatz RA. Altered synaptosomal phospholipid metabolism after tolune. Possible relationship with membrane fluidity, Na⁺, K⁺ -adenosine triphosphate and phospholipid methylation. *J Pharmacol Exp Ther* 1990; 253: 1189-1197.

Leeson TS, Leeson CR, Paparo AA. *Text/Atlas of Histology*. Philadelphia: WB Saunders Comp 1988.

Lerner A.J3; Hormones and Skin color. *Scientific American* 1961 (July) 456-60.

Lerner AB, Nordlund JJ. Melatonin: clinical pharmacology. *J Neural Transm Suppl* 1978; 13:339-347.

Lewy AJ, Wehr TA, Goodwin FK, Newsome DA, Rosenthal NE. Manic-depressive patients may be supersensitive to light. *Lancet* 1981; 1:383-384.

Luboshitzky R, Lavi S, Thuma I ve ark. Increased Nocturnal Melatonin Secretion in Male Patients with Hypogonadotropic Hypogonadism and Delayed Puberty. *J Clin Endocrinol & Metab.* 1995; 80(7): 2114-8.

Macchi MM, Bruce JN. Human pineal physiology and functional significance of melatonin. *Front Neuroendocrinol* 2004; 25:177-195.

Macchi MM, Bruce JN. Human pineal physiology and functional significance of melatonin. *Front Neuroendocrinol* 2004; 25:177-195.

Macchi MM, Bruce JN. Human pineal physiology and functional significance of melatonin. *Front Neuroendocrinol* 2004; 25:177-195.

Marino FE. Methods, advantages and limitations of body cooling for exercise performance. *Br J Sport Med* 2002; 36:89-94.

Martin JE, Klein DC. Melatonin inhibition of neonatal pituitary response to luteinising hormone-releasing factor. *Science* 1975; 191: 301-2.

Martínez-Alfaro M, Cáramez-Trejo A, Sandoval-Zapata F, Morales-Tlalpan V, Palma-Tirado L. Subsurface cistern (SSC) proliferation in Purkinje cells of the rat cerebellum in response to acute and chronic exposure to paint thinner: A light and electron microscopy study.

Martínez-Alfaro M¹, Palma-Tirado L, Sandoval-Zapata F, Cáramez-Trejo A. Correlation between formamidopyrimidine DNA glycosylase (Fpg)-sensitive sites determined by a comet assay, increased MDA, and decreased glutathione during long exposure to thinner inhalation.

Mattia CJ, LeBel CP and Bondy SC. Effects of toluene and its metabolites on cerebral reactive oxygen species generation. *Biochem Pharmacol* 1991; 42: 879-882.

Meadows R, Verghese A. Medical complications of glue sniffing. *South Med J* 1996 89(5):455-62.

Minerva Martínez Alfaro, Yolanda Alcaraz Contreras, Alfonso Cáramez Trejo, and Guillermo E. Leo Amador Oxidative stress effects of thinner inhalation PMCID: PMC3299103

Minerva Martínez-Alfaro¹, Alfonso Cáramez-Trejo^{*,1}, Francisca Sandoval-Zapata^b, Verónica Morales-Tlalpan^c, Lourdes Palma-Tirado^b Subsurface cistern (SSC) proliferation in Purkinje cells of the rat cerebellum in response to acute and chronic exposure to paint thinner: A light and electron microscopy study *Experimental and Toxicologic Pathology* 66 (2014) 323–332

Mollaoğlu H, Özgüner MF. Yaşlanma sürecinde melatoninin rolü. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2005; 12:52-56.

Montilla P, Tunez I, Munoz MC, Lopez A, Soria JV. Hyperlipemic nephropathy induced by adriamycin: Effect of melatonin administration. Nephron 1997, 76: 345-350.

Montilla PL, Vargas JF, Tunez IF, Munoz de Agueda MC, Valdelvira ME, Cabrera ES. Oxidative stress in diabetic rats induced by streptozotocin: protective effects of melatonin. J Pineal Res 1998, 25: 94-100.

Morell M, Camprubi-Robles M, Culler MD, de Lecea L, Delgado M. Cortistatin attenuates inflammatory pain via spinal and peripheral actions. *Neurobiol Dis.* 2014;63:141–54.

Mortola JF, Laughlin GA, Yen SS. Melatonin Rhythms in Women with Anorexia Nervosa and Bulimia Nervosa. J Clin Endocrinol & Metab. 1993; 77(6): 1540-3.

Nawar, W.W. 1996. Lipids. In “Food Chemistry”, O.R. Fennema (Ed), pp: 225-319. Marcel Dekker, New York.

Ozan H. Ozan Anatomi. 3rd ed. Ankara: Klinisyen Tıp Kitabevleri; 2014.
O'Donnell P. Gating of limbic input to the ventral striatum. Vol. 20, Handbook of Behavioral Neuroscience. Elsevier Inc.; 2010. 367-379 p.

Pablos MI, Reiter RJ, Ortiz GG, et al. Rhythms of glutathione peroxidase and glutathione reductase in brain of chick and their inhibition by light. Neurochem Int 1998, 32: 69-75.

Pacchierotti CL, Iapichino L, Bossini L, Pieraccini F, Castrogiovanni P. Melatonin in psychiatric disorders: a review on the melatonin involvement in psychiatry. Front Neuroendocrinol 2001; 22:18-23.

Pahkla R, Zilmer M, Kullisaar T, Rago L. Comparison of the antioxidant activity of melatonin and pinoline in vitro. J Pineal Res 1998, 24: 96-101.

Pail G, Huf W, Pjrek E, Winkler D, Willeit M, Praschak-Rieder N et al. Bright-light therapy in the treatment of mood disorders. *Neuropsychobiology*. 2011; 64:152-162.

Paint thinner exposure inhibits testosterone synthesis and secretion in a reversible manner in the rat

Pascual R, Bustamante C. Structural neuroplasticity induced by melatonin in entorhinal neurons of rats exposed to toluene inhalation.

Pascual R, Pilar Zamora-León S, Pérez N, Rojas T, Rojo A, José Salinas M, Reyes A, Bustamante C. Melatonin ameliorates neocortical neuronal dendritic impairment induced by toluene inhalation in the rat.

Porter NA, (1984) : Chemistry of lipid peroxidation. *Methods Enzymol.*, 105: 273-283.

Ratzburg, C. Melatonin—the myths and facts. http://www.vanderbilt.edu/AnS/psychology/health_psychology/melatonin.htm (retrieved on Jan 01, 2013).

Regelson W, Pierpaoli MD. Melatonin A rediscovered antitumor hormone? Its relation to surface receptors, sex steroid metabolism, immunologic response, and chronologic factors in tumor growth & therapy. *Cancer Invest* 1987; 5:379-385.

Reiter RJ, Tan DX, Osuna C, Gitto E. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. *J Biomed Sci* 2000, 7: 444- 458.

Reiter RJ, Tan DX. Melatonin: a novel protective agent against oxidative injury of the ischemic/reperfused heart. *Cardiovasc Res* 2003; 58:10-19.

Reiter RJ. Functional aspects of the pineal hormone melatonin in combating cell and tissue damage induced by free radicals. *Eur J Endocrinol* 1996, 134: 412-420.

Reiter RJ. Interactions of the pineal hormone melatonin with oxygen-centered free radicals: a brief review. *Brazilian J Med Biol Res* 1993, 26: 1141-1155.

Reiter RJ. Melatonin: clinical relevance. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2003; 17:273-285.

Reiter RJ. The pineal gland and melatonin relation to aging . A summary of the theories and of the data. Exp Gerontol 1995; 30: 199-212 .

Rhoton AL, Jr, Yamamoto I, Peaca DA, Microsurgery of the third ventricle. Part 2. Operative approaches. Neurosurgery 1981; 8: 357.

Rodgers GC, Condurache T, Reed MD, Bestic M, Gal P. Poisoning. In: Kliegman RM, Behrman RE, Jenson HB, Stanton BF eds. Nelson Textbook of Pediatrics. 18 th edition. Saunders and Elsevier, Philadelphia, 2007;339-357.

Sakai JT, Crowley TJ. Inhalant-related disorders: In Sadock BJ, Sadock VA, Ruiz P (editors). Kaplan & Sadock's Comprehensive Textbook of Psychiatry. 9th edition. Lippincott Williams –Wilkins, 2009, 1341-1353.

Salti R, Galluzzi F, Bindi G ve ark. Nocturnal Melatonin Patterns in Children. J Clin Endocrinol & Metab. 2000; 85(6): 2137-44.

Şener G. Karanlığın hormonu: melatonin. Marmara Eczacılık Dergisi 2010; 14:112-120.

Shamir E, Rotenberg VS, Laudon M, Zisapel N, Elizur A. Firts-night effects of melatonin treatment in patients with chronic schizophrenia. J Clin Psychopharmacol 2000; 20:691-694

Sher L, Oquendo MA, Galfalvy HC, Zalsman G, Cooper TB, Mann JJ. Higher cortisol levels in spring and fall in patients with major depression. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2005; 29:529-534

Sözmen EY. Yaşlanma biyokimyası. In: Onat T. Emerk K. Sözmen EY. (Editörler). İnsan Biyokimyası. Ankara: Palme Yayıncılık, 2002: 665-674.

Spiegelmann R, Friedman WA, Pineal region tumors: diagnosis and management. Contemp Neurosurg 1991; 13:1.

Stevens A, Lowe JS. Human Histology. London: Mosby 1997.

Suresh Kumar PN, Andrade C, Bhakta SG, Singh NM. Melatonin in schizophrenic outpatients with insomnia: a double-blind, placebo-controlled study. J Clin Psychiatry 2007; 68:237-241.

Tan D-X, Chen L-D, Poeggeler B, Manchester LC, Reiter RJ. Melatonin: a potent endogenous hydroxyl radical scavenger. Endocr J 1993, 1: 57-60.

Tekelioğlu M., Dört Temel Doku, 1980, Ankara

Thomas L, Drew JE, Abramovich DR, Williams LM. The role of melatonin in the human fetus (review). Int J Mol Med. 1998, 1:539-543.

Toluene inhalation induces glial cell line-derived neurotrophic factor, transforming growth factor and tumor necrosis factor in rat cerebellum Takako Gotohda, Itsuo Tokunaga, Shin-ichi Kubo*, Osamu Kitamura, Akiko Ishigami Legal Medicine 4 (2002) 21–28

Tsuzuki K, Okamoto-Miunu K, Mizuno K. Effects of humid heat exposure on sleep, thermoregulation, melatonin and microclimate. J Therm Biol 2004; 29:31-34.

Ulakoğlu EZ, Saygı A, Gümüştaş MK et al. Alterations in superoxide dismutase activities, lipid peroxidation and glutathione levels in thinner inhaled rat lungs: relationship between histopathologic properties. Pharmacol Res 1998; 38(3):209-

Urata Y, Honma S, Goto S, et al. Melatonin induces gamma-glutamylcysteine synthetase mediated by activator protein-1 in human vascular endothelial cells. Free Radic Biol Med. 1999, 27:838-847

Ustundag B, Canatan H. Melatonin: Güçlü bir antioksidan ve serbest radikal giderici . Firat Tıp Der. 1999; 1:7.

Verkasalo PK, Pukkala E, Stevens RG, Ojamo M, Rudanko SL. Inverse association between breast cancer incidence and degree of visual impairment in Finland. *Br J Cancer* 1999; 80:1459-1460.

Voordouw BC, Euser R, Verdonk RE ve ark. Melatonin and Melatonin-progestin Combinations Alter Pituitary-Ovarian Function in Women and Can Inhibit Ovulation. *J Clin Endocrinol & Metab.* 1992; 74(1): 108-16.

Vural N.Toksikoloji.2. Baskı.Ankara, Ankara Üniversitesi Basımevi,1996;45380.

Vural N.Toksikoloji.2. baskı.Ankara,Ankara Üniversitesi Basımevi,1996;453-80

Weaver DR, Reppert SM. Maternal melatonin communicates daylength to the fetus in Djungarian hamsters. *Endocrinology* 1986; 119: 2861-3.

Wright P, Stern J, Phelan M. Clinical neuroanatomy. In: *Core Psychiatry*. 3rd ed. Edinburgh: Saunders Ltd; 2012. p. 13–4.

Wu LT, Ringwalt CL. Inhalant use and disorders among adults in the United States. *Drug Alcohol Depend* 2006; 85:1–11.

Wurtman RJ. and Axelrod J: The Pineal gland. *Scientific American* . 213 (I):50-60 ,1965

Xiulin Liang , Çing Mao , Donghong Huang , Jian Tang , Jinou Zheng Overexpression of cortistatin alleviates oxygen/glucose-deprivation-induced ER stress and prompts neural stem cell proliferation via SSTR2 *Exp Mol Pathol.* 2020 Apr;113:104351. doi: 10.1016/j.yexmp.2019.104351. Epub 2019 Dec 3.

Yamamoto HA, Tang HW. Melatonin attenuates L-cysteine induced seizures and lipid peroxidation in the brain of mice. *J Pineal Res* 1996, 21: 108-113.

Yazıcı C, Köse K, Gökalp S, Canöz Ö, Utaş C. Siklosporin A nefrotoksitesinde protein oksidasyonunun yeri ve melatoninin koruyucu etkisi. 19. TND Ulusal

Nefroloji Hipertansiyon Diyaliz ve Transplantasyon Kongresi Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi Bildiri Özet Kitabı, Antalya 17-21 Eylül 2002, P-119.

Yazıcı C. Sentetik Seks Steroidlerinin ve Melatoninin Oksidan Antioksidan Sistem Üzerine Etkilerinin Rat Modelinde Araştırılması. Uzmanlık Tezi, Erciyes Ün. Tıp Fakültesi Biyokimya A.D, Kayseri 1999, 151.

Yıldırım M. Tıp Fakültesi Öğrencileri İçin Klinik Nöroanatomî. (Clinical Neuroanatomy for Medical Students, Snell RS, Ed.). İstanbul: Lippincott-Williams&Wilkins/Nobel 2000

Yönel EE, Yaprak M, Yıldız Y. Yüksek ve düşük doz eksojen melatoninin erkek ratlarda vücut ısısına etkileri. Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 1996; 13:1-4

Young B, Heath JW. Wheater's Functional Histology. A text and Colour Atlas. Edinburgh: Churchill Livingstone 2000.

Zengin Ulakoğlu E, Saygı A, Gümüştas MK, Zor E, Akkaya A, Kökoğlu E. The effect of chronic thinner inhalation on lipid peroxidation in rat lung and liver. *Cerrahpaşa J Med* 1998; 29 (2): 75-78.

Zhao Y, Li Y, Qu R, Chen X, Wang W, Qiu C. et al. Cortistatin binds to TNF-alpha receptors and protects against osteoarthritis. *EBioMedicine*. 2019;41:556–70.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Merve	Uyruğu	T.C
Soyadı	ÖNDER		

Eğitim Bilgileri

Mezun olduğu kurum	Mezuniyet yılı
Lise	Atatürk Anadolu Lisesi
Lisans	Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü
Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi ABD
Doktora	Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi ABD

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (yıl-yıl)
Araş. Gör.	Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi ABD	9

Yabancı Dilleri	Sınav türü	Puanı
İngilizce	IELTS	5.5

Proje Deneyimi

Proje Adı	Destekleyen kurum	Süre (Yıl-Yıl)
Kronik selülozik tiner inhalasyonu sonrası rat nucleus accumbensinde oluşacak hasar üzerine Melatonin ve Kortistatinin etkisinin araştırılması	Yükseköğretim Kurumları Destekli Proje	2021 -2023
AmyloidB indüklenerek oluşturulan rat Alzheimer modelinde taurine ve B6 vitamininin rat hipokampusünde oluşacak hasarı önleyici rolünün araştırılması	Yükseköğretim Kurumları Destekli Proje	2019 -2021
OSTEOSİT BENZERİ MLOY4 HÜCRE HATTINA KALSİYUMUN ETKİSİ	Yükseköğretim Kurumları Destekli Proje	2018 -2019
Musculus Biceps Brachii Caput Longum Tendonunda Bulunan Nositör ve Mekanoreseptörlerin Histolojik ve İmmünohistokimyasal Değerlendirilmesi	Yükseköğretim Kurumları Destekli Proje	2017 -2018

Burslar-Ödüller:

Önder M., Kronikselülozik tiner inhalasyonu sonrası ratnucleus accumbens’inde oluşacak hasar üzerine Melatonin ve Kortistatinin etkisinin histolojik, ultrastrüktürel ve biyokimyasal düzeyde araştırılması13.Ulusal Alkol Ve Madde Bağımlılığı Kongresi Eniyi sözlü bildiri (Birincilik Ödülü),13.Ulusal Alkol Ve Madde Bağımlılığı Kongresi,Aralık2022

ÖNDER M., Kronik selülozik tiner inhalasyonu sonrası ratbulbus olfactorius ‘unda oluşacak hasar üzerine melatonin ve c vitamini etkisinin biyokimyasal ve histolojik araştırılması,20.UlusalAnatomiKongresi, 2019En iyi deneysel çalışma, 20.Ulusal Anatomi Kongresi, Ağustos 2019

ÖNDER M., Kronik Selülozik Tiner İnhalasyonu sonrası Rat Bulbus olfactorius’unda oluşacak hasar üzerine Melatonin Ve C vitamini Etkisinin Araştırılması, 12. Ulusal Alkol

ve Madde Bağımlılığı Kongresi, 2018 Sözel İkincilik Ödülü, 12.Ulusal Alkol ve madde Bağımlılığı Kongresi, Aralık 2018

Önder M., Young Researcher award 2018/GENÇ ARAŞTIRMACI ÖDÜLÜ, European Federation For Experimental Morphology, Eylül 2018

Yayınlar ve Bildiriler:

Presence and Morphometric Analysis of Pacini Corpscles in The Long Head of Biceps
gürçay s., ÖNDER M., akçalm.a., ÖZBEY ÜNLÜ Ö., KILINÇ L., OĞUZ N.

2 nd International Congress on Sports, Anthropology, Nutrition, Anatomy and Radiology
(SANAR2020), Nevşehir,

Türkiye, 20 -23 Temmuz 2020, ss.33-34

Presence and Morphometric Analysis of Pacini Corpscles in The Long Head of Biceps
gürçay s., ÖNDER M., akçalm.a., ÖZBEY ÜNLÜ Ö., KILINÇ L., OĞUZ N.

2 nd International Congress on Sports, Anthropology, Nutrition, Anatomy and Radiology
(SANAR2020), Nevşehir,

Türkiye, 20 -23 Temmuz 2020, ss.33-34

I I. Anatomi Aa bilim Dallarında Akademik Yapılanma

SİNDEL M., ALKAN E., Salım H., ÖZN., ÖNDER M., ÖZTÜRK S., KELEŞ ÇELİK N.

8. Anatomi Kış Günleri, Trabzon, Türkiye, 22 -24 Ocak 2020, ss. 50

IV. Biochemical and histological investigation of the effects of melatonin and c vit on
damage rat bulbus olfactory after chronic cel ulose thinner inhalation

ÖNDER M., GÜMÜŞLÜ S., Genç g.e., GÜRER İ. E., Oğuz Yolcular B., OĞUZ N.

20. Ulusal Anatomi Kongresi, İstanbul, Türkiye, 27 -31 Ağustos 2019, ss.186

V. Accessory muscle in the neck the cadaver Akyol G., ÖNDER M., Çetin M., OĞUZ N.

20. Ulusal Anatomi Kongresi, İstanbul, Türkiye, 27 -31 Ağustos 2019, ss.181

VI. Kronik selülozik tiner inhalasyonu sonrası rat bulbus olfactorius'unda oluşacak
hasar üzerine melatonin ve c vitamini etkisinin araştırılması

ÖNDER M., GÜMÜŞLÜ S., Genç G. E., GÜRER İ. E., Oğuz Yolcular B., OĞUZ N.

12.Ulusal Alkol ve Madde Bağımlılığı Kongresi, Antalya, Türkiye, 29 Kasım-
02 Aralık 2018, ss.160

Ultrastructural investigation of the effect of melatonin and C vitamin on damage in rat
bulbus olfactorius after chronic celulosic thinner inhalation

ÖNDER M., GÜMÜŞLÜ S., Genç G. E., GÜRERİ. E., OĞUZ N., Oğuz Yolcular B.

1. Uluslararası Akdeniz Anatomi Kongresi, Konya, Türkiye, 6 -09 Eylül 2018, ss.214

Ultrastructural investigation of the effect of melatonin and C vitamin on damage in rat bulbous olfactorius after chronic celulosic thinner inhalation

ÖNDER M., GÜMÜŞLÜ S., Genç G. E., GÜRERİ. E., OĞUZ N., Oğuz Yolcular B.

1. Uluslararası Akdeniz Anatomi Kongresi, Konya, Türkiye, 6 -09 Eylül 2018, ss.214.

Morphology and morphometric measurements of the interlaminar distance of the lumbar region

Gediz T., ÖNDER M., Çetin M., SİNDEL M., Oğuz Yolcular B., OĞUZ N.

1. Uluslararası Akdeniz Anatomi Kongresi, Konya, Türkiye, 6 -09 Eylül 2018, ss.246

Morphology and morphometric measurements of the interlaminar distance of the lumbar region

Gediz T., ÖNDER M., Çetin M., SİNDEL M., Oğuz Yolcular B., OĞUZ N.

1. Uluslararası Akdeniz Anatomi Kongresi, Konya, Türkiye, 6 -09 Eylül 2018, ss.220

“Ultrastructural investigation of the effect of melatonin and C vitamin on damage in rat bulbous olfactorius after chronic celulosic thinner inhalation”

ÖNDER M., GÜRERİ. E., GÜMÜŞLÜ S., OĞUZ N., Genç G. E., Oğuz Yolcular B.

18. Ulusal Anatomi Kongresi, Bolu, Türkiye, 25 -27 Eylül 2017, ss.150

“Ultrastructural investigation of the effect of melatonin and C vitamin on damage in rat bulbous olfactorius after chronic celulosic thinner inhalation”

ÖNDER M., GÜRERİ. E., GÜMÜŞLÜ S., OĞUZ N., Genç G. E., Oğuz Yolcular B.

18. Ulusal Anatomi Kongresi, Bolu, Türkiye, 25 -27 Eylül 2017, ss.150

Morphometric evaluation of the supratrochlear foramen OĞUZ N., gürcay s., ÖNDER M., akçalm. a., oğuz yolcular b., SİNDEL M.

18. Ulusal Anatomi Kongresi, Bolu, Türkiye, 25 -27 Eylül 2017, ss.152-153

Morphometric evaluation of the supratrochlear foramen OĞUZ N., gürcay s., ÖNDER M., akçalm. a., oğuz yolcular b., SİNDEL M.

18. Ulusal Anatomi Kongresi, Bolu, Türkiye, 25 -27 Eylül 2017, ss.152-153

Morphometric analysis of the anatomical structures of tibial plateau

Karakoyun Z. N., ÖNDER M., gürcay s., SÜZEN L. B.

17.Ulusal Anatomi Kongresi, Eskişehir, Türkiye,5 -09 Eylül 2016, ss.145

Anatomy of fovea capitis femoris in Turkey and comparison with the femur of the early Byzantine gürçay s., ÖNDER M., OĞUZ N.

17.Ulusal Anatomi Kongresi, Eskişehir,Türkiye,5 -09Eylül2016, ss.148

Chronic cel ulosic of thinner inhalation effects on lipid peroxidation

ÖNDER M.,GÜMÜŞLÜ S.,Genç G.E.,GÜRER İ.E.,Oğuz Yolcular B.,OĞUZ N.

17.Ulusal Anatomi Kongresi, Eskişehir,Türkiye,5 -09 Eylül2016, ss.172

Morphological and topographical anatomy of nutrient foramina in human patel a bones and their surgical importance

OĞUZ N.,ÖNDER M.,gürçay s.

Nutrient foramina in the os lunatumfromthe carpal bones: morphometric study

ÖNDER M., gürçay s., OĞUZ N.

InternationalSymposiumonMorphologicalSciences, İstanbul, Türkiye,2 -06 Eylül 2015, ss. 225

16. Ulusal Anatomi Kongresi,Malatya,Türkiye,11 -14Eylül2014, ss.166-167

Humerus'un Proksimal Ucundaki Anatomik OluşumlarınMorfometrik Ölçümleri

ÖNDER M., Oğuz Yolcular B.,OĞUZ N.

16.Ulusal Anatomi Kongresi,Malatya,Türkiye,11 -14Eylül2014, ss.233-234

Lunat fossa'nın Morfometrik Değerlendirilmesi

ÖNDER M., ALDEMİR C., Oğuz Yolcular B.,OĞUZ N.

16.Ulusal Anatomi Kongresi, Malatya,Türkiye,11 -14 Eylül 2014, ss.166-167

Diğer Dergilerde Yayınlanan Makaleler Which parameters aremore reliable in proximal humerus surgery in terms of the axil ary nerve?

ÖnderM.,Etli İ.,Aldemir C.

Joint diseases and related surgery, cilt.34, sa.1, ss.190-195,2023 (Hakemli Dergi)

SCI, SSCI ve AHCI İndekslerine Giren Dergilerde Yayınlanan Makaleler

Circumferential Graft Technique for Treatment of chronicmultidirectional ligamentous Instability of the interphalangeal Joint of the Thumb Kilicaslan O.F., ÖNDER M., Kose O., Aldemir C. HAND CHIRURGIEMIKROCHIRURGIE PLASTISCHECHIRURGIE, 2022 (SCI-Expanded) . Morphometric and Morphologic anatomic study and clinical significance of Greater tubercle ÖNDER M., İnci F. Turkish JournalofMedicalSciences,

cilt.10, ss.555-559,2021 (SCI-Expanded) Risk of intervertebral disc joint puncture during lumbar puncture ERTAŞ A.,Gediz T., Ozdol C., Gurses I.A., ÖNDER M. ,ÜZEL M., Aghayev K. CLINICAL NEUROLOGY AND NEUROSURGERY, cilt.200,2021 (SCI-Expanded)

Morphometric anatomic study and clinical significance of the collateral ligaments of the thumb interphalangeal joint ÖNDER M., ALDEMİR C. Turkish Journal of Medical Sciences, cilt.9, ss.814-816,2020 (SCI-Expanded)

Morphometric anatomic study and clinical significance of lunate fossa ALDEMİR C., ÖNDER M., DOĞAN A., DUYGUN F., OĞUZ N. EKLEM HASTALIKLARI VE CERRAHISI-JOINT DISEASES AND RELATED SURGERY, cilt.26, sa.1, ss.27-30

Sertifika, Kurs ve Eğitimler

9.Anatomi Kış Günleri katılım sertifikası , Anatomi Kongresi,2 021

Sağlık ve Tıp, CT görüntülerde üç boyutlu modelleme, Arel Üniversitesi, 2021

Sağlık ve Tıp, Temel El Bileği Artroskopik Kursu,Türk ElveÜst Ekstremitte Cerrahi Derneği, 2020

Ulusal Anatomi Kongresi katılım sertifikası, Anatomi Kongresi, 2019

Sağlık ve Tıp, Certificate of course completionupper extremitydissection, Akdeniz Üniversitesi , 2018

12. Ulusal Alkol ve Madde Bağımlılığı Kongresi katılım sertifikası, Psikiyatri Kongresi, 2018

19.Ulusal Anatomi Kongresi 06-09 Eylül 2018 katılım sertifikası, Anatomi Kongresi,2018

First İnternational Mediterranean Anatomy Congress katılım sertifikası, Anatomi Kongresi, 2018

18.Ulusal Anatomi Kongresi katılım sertifikası, Anatomi Kongresi, 2017

Sağlık ve Tıp, VI I. Pelvis-Acetabulum Kırıkları Cerrahi Tedavisi Uygulamalı Eğitim Toplantısı, Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği, 2017

17. Ulusal Anatomi Kongresi” katılım sertifikası, Anatomi Kongresi, 2016

17. Ulusal Eskişehir Anatomi Kongresi katılım sertifikası,Anatomi Kongresi, 2016

Sağlık ve Tıp, Tıp Veritabanları Eğitimi Toplantısı Clinical Key, Akdeniz Üniversitesi, 2016

Sağlık ve Tıp, Diz ekleminde Artroskopisi ve Ayak-Ayak Bileği Cerrahi Girişimleri Kursları, TOTBİD, 2016

Sağlık ve Tıp, Üst ekstremite de Teorik ve kadavra uygulamalı cerrahi yaklaşımlar kursu, TOTBİD, 2015

Sağlık ve Tıp, Medikal Fotoğrafçılık Kursu, 24. ISMSS Congress, 2015

Diğer, XXIV International Symposium on Morphological Sciences katılım sertifikası, ISMISS Turkey Congress, 2015

Sağlık ve Tıp, Endnote X3 Kursu, Endnote kullanımı, Akdeniz Üniversitesi, 2015

Sağlık ve Tıp, 24. Diz Ekleminde Temel Cerrahi Artroskopi Kursu, Diz eklemine cerrahi yaklaşım, TOTBİD, 2015

Sağlık ve Tıp, 12. Temel Ayak Bileği Artroskopi Kursu, Ayak Bileğine cerrahi yaklaşım, Akdeniz Üniversitesi, 2015

Sağlık ve Tıp, Surfcam yazılım ve microscribe, Erdal Fırat Mühendislik, 2015

Sağlık ve Tıp, Nörostimülasyon Kadavra Kursu, Nöromodulasyon Araştırma ve Eğitim Derneği, 2015

Sağlık ve Tıp, Ayak ve Ayak Bileğinde Cerrahi Kesiler, Osteotomi ve Artroplasti Eğitim Toplantısı, TOTBİD, 2015

Sağlık ve Tıp Spor Travmatolojisinde Dizde İleri Cerrahi Teknikler, TOTBİD, Spor yaralanmasında cerrahi teknikler, TOTBİD, 2015

Sağlık ve Tıp, Macromedia Flash Kursu, Macromedia Flash Kursu, Akdeniz Üniversitesi, 2015

Sağlık ve Tıp, 5. Pelvis-Asetabulum Kırıkları Cerrahi Tedavisi Uygulamalı Eğitim Toplantısı, Asetabulum kırıkları, TOTBİD, 2015

Sağlık ve Tıp, 3. Asian Congress of Minimally Invasive Spine Surgery and Techniques, ISMISS Turkey Congress, 2014

Sağlık ve Tıp, 9. Kadavrada Omuz Artroskopisi Kursu, Omuz artroskopisi Uygulama, TOTBİD, 2014

Sağlık ve Tıp, Deney Hayvanları Kullanımı Sertifika Kursu, Akdeniz Üniversitesi, 2014
Diğer,16. Ulusal Anatomi Kongresi katılım sertifikası, Anatomi Kongresi, 2014
Sağlık ve Tıp, 11. Kadavrada Ayak Bileği Kursu, Kadavrada ayak bileği diseksiyonu,
Akdeniz Üniversitesi, 2014

